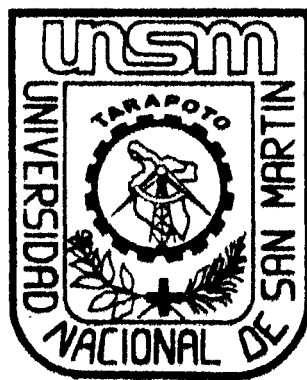


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL



TESIS

**"IDENTIFICACIÓN Y CONTROL *IN VITRO* DE
ENFERMEDADES FUNGOSAS EN SEMILLAS DE SACHA
INCHI (*Plukenetia volubilis* L.), EN SAN MARTÍN."**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR LA BACHILLER:

ROCIO SANDOVAL DEL AGUILA

TARAPOTO - PERÚ

2008

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS



DEPARTAMENTO ACADÉMICO AGROSILVO PASTORIL

ÁREA DE PROTECCIÓN DE CULTIVOS

**“IDENTIFICACIÓN Y CONTROL *IN VITRO* DE ENFERMEDADES
FUNGOSAS EN SEMILLAS DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis* L.),
EN SAN MARTÍN.”**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
AGRÓNOMO**

PRESENTADO POR LA BACHILLER:

ROCÍO SANDOVAL DEL AGUILA

.....
Ing. M/ Sc. Jorge Sánchez Ríos
Presidente

.....
Ing. M. Sc. Orlando Ríos Ramírez
Miembro

.....
Ing. Elías Torres Flores
Miembro

.....
Ing. Eybis José Flores García
Asesor

TARAPOTO – PERÚ

2008

DEDICATORIA

A mis amados padres, Flor de María

Del Aguila Amasifuén y Luis

Sandoval Aspajo, quienes con

sacrificio y amor, hicieron posible

la culminación de mi carrera

profesional.

A mis queridos abuelitos que siempre

depositaron en mí su confianza y sus

mejores deseos.

A mi querido hermano Luis

Sandoval del Aguila, por su apoyo

y confianza.

AGRADECIMIENTO

- Al Ing. Eybis José Flores García, asesor de la presente tesis, Profesor Asociado de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín, por su apoyo en la realización de esta tesis.
- Al técnico del Laboratorio de Sanidad Vegetal, Sr. Delman Panduro Reátegui por su apoyo.
- A mi hermano Luis Sandoval del Aguila por apoyarme con la elaboración del artículo científico de esta tesis.
- A mi compañero César Augusto Gamarra Pérez por apoyarme incondicionalmente durante la realización de la presente tesis.

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
3.1. Importancia económica del cultivo de Sacha inchi	3
3.2. Aspectos morfológicos y agronómicos del cultivo de Sacha inchi	3
3.3. Distribución del cultivo de Sacha inchi	4
3.4. Requerimientos edafoclimáticos del cultivo de Sacha inchi	5
3.5. Descripción botánica del cultivo de Sacha inchi	6
3.6. Usos y valores nutritivos del cultivo de Sacha inchi	6
3.7. Labores en el cultivo de Sacha inchi	6
a) Preparación del terreno	6
b) Época de siembra	7
c) Propagación	7
d) Manejo de la plantación	7
3.8. Agentes causales de enfermedades en Sacha inchi	8
3.9. Tipos de fungicidas	9
a) Fungicidas de contacto o protectores	9
b) Fungicidas de acción sistemática local	10
c) Fungicidas sistémicos	10
3.10. Fungicidas de acuerdo a su peligrosidad	11
3.11. Descripción de los fungicidas	11
a) Propanocarb	11
b) Methiram	11
c) Tiofanate metil + Thiram	11
d) Metalaxil + Mancozeb	12
e) Tebuconazole	12
f) Captan + Flutolamil	13
g) Mancozeb	13

h) Benomilo	13
3.12.Importancia de tratamientos en semillas	14
3.13.Datos meteorológicos y edáficos del Valle del Paiwa, Pinto Recodo y San Roque de Cumbaza	17
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	19
4.1. Ubicación del experimento	19
4.1.1. Ubicación geográfica	19
4.1.2. Ubicación política	19
4.2. Recolección de las semillas	19
4.3. Muestreo de las semillas	20
4.4. Distribución de semillas	20
4.5. Desinfestación	21
4.6. Preparación de cámara húmeda	21
4.7. Preparación del medio de cultivo para hongos	22
4.8. Preparación del agar nutritivo	23
4.9. Distribución del medio de cultivo	23
4.10.Aislamiento	24
a) Aislamiento de hongos	24
b) Aislamiento de bacterias	24
4.11.Repique	24
4.12.Identificación de los patógenos	25
4.13.Prueba de patogenicidad	26
4.14.Prueba de alimento envenenado	27
4.15.Reaislamiento	28
4.16.Parámetros evaluados	29
a) Porcentaje de infestación de la semilla del <i>Plukenetia volubilis</i> L. observados en cámara húmeda	29
b) Características biométricas	29
c) Características morfológicas	31
d) Pruebas de patogenicidad	31
e) Prueba de alimento envenenado	31

V. RESULTADOS	32
5.1. Infestación e infección de la semilla del <i>Plukenetia volubilis</i> L.	32
5.2. Aislamientos y estructuras de los hongos aislados de semillas de <i>Plukenetia volubilis</i> L.	34
5.3. Tiempo de colonización	38
5.4. Pruebas de patogenicidad	38
5.5. Características de las bacterias	42
5.6. Prueba de alimento envenenado	43
VI. DISCUSIONES	49
6.1. Porcentaje de infestación de la semilla de <i>Plukenetia volubilis</i> L. observados en cámara húmeda	49
6.2. Características morfológicas y biométricas de los hongos	50
6.3. Características morfológicas e identificación de las bacterias	51
6.4. Pruebas de patogenicidad	51
6.5. Alimento envenenado	53
VII. CONCLUSIONES	58
VIII. RECOMENDACIONES	59
IX. RESUMEN	60
X. SUMMARY	61
XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
XII. ANEXO	67

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de Sacha Inchi, está ingresando al mercado mundial por el contenido de aceite Omega 3, 6 y 9; constituyendo como importante recurso genético y valioso aporte de nuestra Amazonía a la humanidad. En el Perú se encuentra en estado silvestre, básicamente en los departamentos de San Martín, Ucayali, Amazonas, Madre de Dios y Loreto.

En las áreas rurales de la selva, los pobladores utilizan su almendra, ya sea cocida o tostada por sus cualidades nutricionales y alimenticias; además tiene cualidades farmacéuticas y cosméticas reconocidas en el Perú y algunos países de Europa.

El sachá inchi no obstante de ser un cultivo de mucha importancia en la alimentación humana por su contenido proteico, es poco lo que se conoce de este cultivo referido al manejo agronómico y sus características fenológicas.

Existen varios factores que afectan los rendimientos y la calidad del sachá inchi, dentro de ellas la incidencia de plagas como nemátodos de agalla, malezas y hongos. En cuanto a los hongos fitopatógenos no se tiene información detallada para ejecutar una buena estrategia de manejo; por estas razones se realizó el presente trabajo de investigación relacionado a la identificación y control de enfermedades fungosas que infectan a las semillas del indicado cultivo, y evitar la diseminación masiva de enfermedades en semillas.

II. OBJETIVOS

- 1. Identificación de los agentes causales de las principales enfermedades fungosas en semillas de *Plukenetia volubilis* L. en San Martín.**
- 2. Evaluar el efecto del alimento envenenado con fungicidas en el desarrollo de los patógenos.**

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. Importancia económica del cultivo de sachá inchi

El sachá inchi es un término quechua, que significa **sacha**: Silvestre o monte e **Inchic**: maní (Vela, 1995), es ampliamente distribuido en la amazonia peruana como alimento por la población rural nativa y mestiza; en siembras experimentales y observaciones de campo en San Martín, señalan su potencial como planta agroindustrial alimentario, por su crecimiento y desarrollo en suelos ácidos, con pendiente o erosionados, constituye una alternativa para la reforestación económica y auto sostenida de la Selva Alta y su corto periodo de inicio de cosecha (Valles, 1994).

3.2. Aspectos morfológicos y agronómicos del cultivo de sachá inchi

La especie tiene hojas alternas, acorazonadas, de 10 a 12 cm de largo y de 8 a 10 cm de ancho; “tres nervaduras nacen del pecíolo, una central y dos laterales, todas orientándose hacia el ápice y de ellas nacen otras nervaduras”; las flores masculinas son pequeñas, blanquecinas y distribuidas en racimos. En la base del racimo y lateralmente se encuentra “mayormente una flor femenina”; los frutos son cápsulas dehiscentes, usualmente formados por cuatro cápsulas, algunos frutos presentan cinco a seis cápsulas, dentro de las cuales se encuentran las semillas de color marrón oscuro, ovalada; de 1,5 cm a 2 cm de diámetro, ligeramente abultadas en el centro y aplastadas hacia los bordes, al abrirlas encontramos los cotiledones a manera de almendras y cubiertas de una

película blanquecina, en condiciones de medio ambiente y al aire libre, las semillas se conservan por más de un año; la germinación se inicia a dos semanas de la siembra y siempre que exista suficiente humedad, una semana después aparecen la segunda hoja verdadera y el tallo guía, este periodo es el más adecuado para el trasplante, que puede hacerse a raíz desnuda (Valles, 1994),

3.3. Distribución del cultivo de sachá inchi

El *Plukenetia volubilis* L., fue descubierto por Linneo en 1753, pertenece a la familia Euphorbiaceae (MaC Bride, 1951), es una planta voluble, trepadora y semileñosa; esta distribuida en el trópico latinoamericano desde el Sur de México, Indias Occidentales, la Amazonia y el Acre de Bolivia; en nuestro país, se ha recolectado en Madre de Dios, Huánuco, Oxapampa, San Martín, Rodríguez de Mendoza, Ucayali (Pucallpa, Contamina y Requena), en Putumayo, alrededores de Iquitos y Caballococha (Cámara de Comercio, Industria y Turismo, 1993).

Comúnmente se le encuentra, en bordes de bosques secundarios (purmas), en cañabrabales, sobre cercos vivos, alambradas y como maleza en el cultivo de plátano y cultivos permanentes; en San Martín se le encuentra en toda la Cuenca del Huallaga hasta Yurimaguas; en el Alto Mayo, Bajo Mayo, el Valle del Sisa y áreas de la Cuenca Lamas – Shanusi (INIA, 1996).

3.4. Requerimientos edafoclimáticos del cultivo de sachá inchi

El sachá inchi, de acuerdo a su distribución, se comporta muy bien a las diversas temperaturas que caracterizan a la amazonia peruana; crece desde los 100 m.s.n.m en la Selva Baja y hasta 1500 m.s.n.m en la Selva Alta, es de rápido crecimiento, requiere de disponibilidad permanente de agua, para tener un crecimiento sostenido, siendo mejor si las lluvias se distribuyen en forma uniforme durante los doce meses del año. Los excesos de agua incrementan los daños producidos por plagas y enfermedades (INIA, 1996), “por que los pelos absorbentes y raicillas son muy sensibles a la anaerobiosis”.

Requiere abundante luz para el proceso de fotosíntesis; a bajas intensidades de luz, la planta necesita mayor número de días para completar su ciclo vegetativo; si la sombra es muy intensa, la floración disminuye y por lo tanto la producción se reduce (INIA, 1996). Con el sistema de tutores vivos (*Erythrina sp*), manejándose la sombra con podas, el sachá inchi tiene un buen comportamiento (INIA, 1996).

La alta humedad relativa con fuertes precipitaciones pluviales condiciona el desarrollo vigoroso de la planta, aunque puede resultar propicio para la proliferación de enfermedades y con humedad relativa del 78% y temperatura media de 26 °C, se observan plantas de sachá inchi libres de enfermedades (INIA, 1996).

3.5. Descripción botánica del cultivo de sachá inchi

Según Vela 1995, nos menciona la taxonomía siguiente:

Reyno..... Vegetal

División..... Spermatophyta

Subdivisión..... Angiospermas

Clase..... Dicotiledónea

Orden..... Euphorbiales

Familia..... Euphorbiaceae

Género..... *Plukenetia*

Especie..... *volubilis*

3.6. Usos y valores nutritivos del cultivo de sachá inchi

El sachá inchi es cotizado, en la población nativa y mestiza de las áreas rurales de San Martín, la semilla actualmente se consume tostada, cocida con sal, o molidas y mezcladas con harina de maíz o ají (Hamaker, 1992). Los análisis químicos realizados por Hazen y Stoewsend en 1980 aunque no publicados, citados por Hamaker (1992), mostraron que el sachá inchi presenta nivel elevado de aceite (54%) y contenido alto de proteínas (27 %).

3.7. Labores en el cultivo de sachá inchi

a) Preparación del terreno

En áreas de bosque secundario o purmas, la vegetación se corta en la parte baja, fraccionados los rastrojos se distribuyen para formar una capa de cobertura (INIA, 1996) y la preparación del terreno en forma tradicional

consiste en rozo, tumba, quema, limpieza, trazado y demarcación del campo (Torres, 2007).

b) Época de siembra

La siembra es recomendable entre diciembre a marzo y por lo tanto el almácigo se prepara de noviembre a febrero (INIA, 1996).

c) Propagación

El sachá inchi se propaga comúnmente por semilla; aunque también se puede realizar la propagación asexual o por estacas, siendo no recomendable por su escasa efectividad. En la siembra directa se colocan 2 semillas por hoyo y posteriormente se elimina la planta más débil, dejando la más vigorosa y la siembra en vivero se realiza distribuyendo las semillas en línea, a una profundidad de 3 cm y a una distancia de 10 cm entre sí; una vez alcanzado el estado de plántula con sus 2 hojas verdaderas se hace el repique o traslado de las vigorosas a las bolsas plásticas de 10 x 20 cm y donde se mantienen por un mes, luego se lleva a campo definitivo, antes de que comiencen a trepar (INIA, 1996).

d) Manejo de la plantación

Existen dos tipos de tutoraje, en los tutores vivos el más adecuado es la *Erythrina fusca* y los tutores muertos son apropiados para suelos planos que permiten buen manejo, las ramas se acomodan a los alambres templados entre los tutores que se colocan a distancias de 3 x 3 m ó 6 x 6 m (INIA, 1996). Actualmente se están introduciendo otras especies

forestales en el sistema de tutores vivos como el *Acrocarpus fraxinifolius*, *Sweitenia macrophylla*, *Sickingia williamsi*, *Guazuma crinita* (Torres, 2007).

3.8. Agentes causales de enfermedades en sachá inchi

Sandoval (2005), a través de un trabajo de prácticas pre-profesionales nos reporta patógenos encontrados en semillas de Sachá inchi.

Cuadro 1: Desarrollo de patógenos en medio de cultivo contaminando semillas de sachá inchi.

N° de placas	Patógenos identificados
1	<i>Fusarium oxysporum</i>
2	<i>Cercospora</i> spp.
3	<i>Rhizoctonia solani</i>
4	<i>Rhizoctonia solani</i>
5	<i>Fusarium solani</i>
6	<i>Fusarium oxysporum</i>

INIA (2007), nos reporta el siguiente cuadro:

Cuadro 2: Reportes de nemátodos y hongos

	Nombre científico	Parte afectada
Nemátodos	<i>Meloidogyne</i> sp.	Suelo
	<i>Meloidogyne incognita</i>	Raíces y suelos
	<i>Aphelenchus</i> sp.	Raíces
	<i>Helicotylenchus</i> sp.	Raíces y suelo
	<i>Tylenchus</i> sp.	Suelo
Hongos	<i>Alternaria</i> sp.	Rama
	<i>Fusarium</i> sp.	Cuello de la planta
	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Cuello de la planta

Las bacterias invariablemente se encuentran presentes cuando los tejidos carnosos de las plantas estén pudriéndose en el campo o durante su almacenamiento y el aroma desagradable que desprenden los tejidos putrefactos se debe, por lo común, a sustancias volátiles que liberan cuando son degradados por dichas bacterias; el grupo de Erwinias "*carotovora*" o de las "pudriciones blandas", produce la pudrición blanda de numerosos frutos carnosos, hortalizas y plantas de ornato conocida como *E. carotovora* pv. *carotovora* (Agrios, 1997).

3.9. Tipos de fungicidas

a) Fungicidas de contacto o protectores

Los fungicidas de protección no penetran en el tejido foliar (Adrianzen, 1996) y protegen la parte externa de la planta contra una amplia variedad de enfermedades causadas por hongos tales como: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium*, que atacan a las plantas en las diversas etapas fenológicas (FAO, 2000).

Es esencial que los fungicidas protectantes estén sobre las hojas, antes de las lluvias, este fungicida no es fácilmente lavado después de terminado de secar (Adrianzen, 1996). Algunos ejemplos de fungicidas de contacto que se encuentran en el mercado son "Captan", "Thiram", "Clorotalonil" (Adrianzen, 1996 y FAO, 2000).

El modo de acción de estos productos generalmente es de multisitio, un proceso bajo control multigénico, es decir, que actúan en diferentes procesos metabólicos vitales para la vida del hongo, por lo que la

probabilidad de obtener resistencia del hongo a estos fungicidas es bastante baja. En general, los fungicidas protectantes afectan el metabolismo de las proteínas, bloquean la oxidación de ácidos grasos, afectan la producción de energía /ATP y bloquean la enzima deshidrogenasa (Yaringaño, 1985).

b) Fungicidas de acción sistémica local.

Es un grupo intermedio de fungicidas, las cuales penetran a las hojas, pero no son traslocados al resto de la planta. Su modo de acción se ubica en los inhibidores de la biosíntesis del ergosterol (Apablaza, 2000).

c) Fungicidas sistémicos.

Estos productos son específicos, tienen propiedades terapéuticas y efecto prolongado ya que penetran en las hojas y pueden movilizarse a otros tejidos, dentro de la misma hoja ó hacia otras partes de la planta (Apablaza, 2000), los ingredientes activos penetran en la planta, traslocándose desde el sistema radicular hasta las hojas, proporcionando una protección a la planta (FAO 2000), generalmente actúan en un solo paso en la fisiología del patógeno (monositio), lo que incrementa la posibilidad de generar resistencia del hongo a estos productos y en la actualidad se cuenta con 4 familias químicas (Benzimidazoles, Triazoles, Pirimidinas y recientemente las Estrobirulinas) (Apablaza, 2000).

3.10. Fungicidas de acuerdo a su peligrosidad

Mont (2002), reporta que los fungicidas pueden ser agrupados de acuerdo a la clasificación de su peligrosidad, (Recomendación de la Organización Mundial de la Salud, OMS, 1984 – 1985), en las siguientes categorías:

- a. **Clase IA.** Productos técnicos de fungicidas extremadamente peligrosos.
- b. **Clase IB.** Productos técnicos de fungicidas altamente peligrosos.
- c. **Clase II.** Productos técnicos de fungicidas moderadamente peligrosos.
- d. **Clase III.** Productos técnicos de fungicidas ligeramente peligrosos.

3.11. Descripción de los fungicidas

- a) **Propanocarb.** Fungicida sistémico orgánico, actúa controlando hongos oomicetos afectando la síntesis del ARN (**Adrianzen, 1996 y 2001**); tiene especificidad para el cromista *Phytophthora capsici* (**Agrios 1997**).
- b) **Methiram.** Es un fungicida orgánico de contacto, controla enfermedades fungosas sin causar daño al follaje y sin dejar residuos en la cosecha, actúa formando una barrera sobre la superficie de la planta impidiendo la germinación de esporas y son absorbidos por el patógeno en proporciones tóxicas (**Adrianzen, 1996 y 2001**). Tiene su acción multisitio y multigénico, es decir actúa en diferentes procesos metabólicos (**Pimentel y Levitan 1986 citado por Orozco-Santos 1998**).
- c) **Tiofanate metil + Thiram.** Posee un amplio y efectivo rango de control de enfermedades fungosas, actúa en forma sistémica y de contacto debido a sus dos componentes activos Tiofanate metil y Thiram, se trasloca por el

xilema penetrando en los tejidos de la planta actuando en la síntesis de la tubulina; y es ligeramente tóxico (**Adrianzen, 1996 y 2001**). El Tiofanate metil, es posible que actuó sobre la división celular al nivel de mitosis, por que es un fungicida sistémico que generalmente actúan en un solo paso en la fisiología del patógeno (**Shilengford 1990 citado por Orozco-Santos 1998**), en caso de aplicaciones sucesivas puede generar resistencia (**Staud, 1991 citado por Orozco-Santos, 1998**); su modo de acción contra los hongos estudiados ha sido ampliado por acción del Thiram que es un fungida de multisitio (**Pimentel y Levitan 1986 citado por Orozco-Santos 1998**).

d) Metalaxil + Mancozeb. Fungicida preventivo curativo, de amplio espectro que tiene las características de dos fungicidas no relacionados, uno de acción sistémica (Metalaxil) que actúa interfiriendo en la síntesis del ARN con lo cual afecta su desarrollo y producción de esporas, y otro de contacto (Mancozeb) que tiene acción preventiva sobre las esporas impidiendo su germinación o causando su muerte; haciéndolo altamente efectivo en el control de diversas enfermedades que atacan a los cultivos; y es ligeramente tóxico (**Adrianzen, 1996 y 2001; Apablaza, 2000**).

e) Tebuconazole. Es sistémico del grupo de los triazoles, interfiere en el metabolismo de los hongos, inhibiendo la biosíntesis de los ergosteroles en más de un punto (**Adrianzen, 1996 y 2001**).

- f) Captan + Flutolamil.** Fungicida que combina la acción sistémica curativa y la acción preventiva, de largo poder residual y amplio espectro. Son de multiacción intervienen en la respiración celular y el ciclo de krebs (Adrianzen, 1996 y 2001).
- g) Mancozeb.** Fungicida de amplio espectro, de elevada actividad fungicida contra la mayor parte de las enfermedades de las plantas cultivadas. Actúa de contacto sobre hongos fitopatógenos; inactiva los grupos de aminoácidos, proteínas y enzimas de las células de los patógenos; y es ligeramente tóxico (Adrianzen, 1996 y 2001).
- h) Benomilo.** Es un fungicida erradicante y preventivo de acción sistémica, efectivo contra un amplio rango de hongos que afectan diversos cultivos de campo. Actúa sobre la tubulina de las células al impedir la realización de la mitosis; y es ligeramente tóxico (Adrianzen, 196 y 2001).

Cuadro 3: Patógenos y fungicidas que lo controlan

Patógenos	Fungicidas									Autor
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<i>Phytophthora capsici</i>	X			X	X					Adrianzen (2001)
<i>Rhizoctonia solani</i>			X				X		X	Adrianzen (2001)
<i>Fusarium oxysporum</i>									X	Adrianzen (2001)
<i>Pythium sp.</i>			X				X			Adrianzen (2001)
<i>Alternaria tenuis</i>		X						X		Adrianzen (2001)
<i>Cercospora capsici</i>								X		Adrianzen (2001)
<i>Cercospora labae</i>		X						X		Adrianzen (2001)
<i>Botrytis cinerea</i>						X		X		Adrianzen (2001)
<i>Phytophthora infestans</i>		X		X	X			X		Adrianzen (2001)
<i>Alternaria solani</i>		X								Adrianzen (2001)
<i>Pseudoperonospora cubensis</i>		X								Adrianzen (2001)
<i>Peronospora destructor</i>		X		X	X					Adrianzen (2001)
<i>Peronospora cubensis</i>				X	X					Adrianzen (2001)
<i>Cladosporium spp.</i>		X								Adrianzen (2001)
<i>Cercospora apii</i>		X								Adrianzen (2001)
<i>Helminthosporium sp.</i>		X				X				Adrianzen (2001)
<i>Botrytis alli</i>						X				Adrianzen (2001)
<i>Puccinia morder</i>						X				Adrianzen (2001)
<i>Uromyces pisi</i>						X				Adrianzen (2001)
<i>Erysiphe polygoni</i>						X				Adrianzen (2001)
<i>Pyricularia grises</i>			X			X				Adrianzen (2001)
<i>Fusarium sp.</i>			X							Adrianzen (2001)
<i>Sclerotium sp.</i>			X							Adrianzen (2001)
<i>Verticillium sp.</i>			X							Adrianzen (2001)

Fungicidas: 1) Propanocarb, 2) Methiram, 3) Tiofanate metil + Thiram, 4) Metalaxil 8 % + Mancozeb 64%, 5) Metalaxil 4 % + Mancozeb 64 %, 6) Tebuconazole, 7) Flutolamil + Captan, 8) Mancozeb y 9) Benomilo (Fuente propia).

3.12. Importancia de tratamientos en semillas

Las semillas juegan un papel muy importante en la diseminación de patógenos (Porta-Plugia y Aragona, 1997), pudiéndose extender a gran distancia. Los tratamientos sobre la semilla permiten, entre otras cosas, reducir dicha diseminación, presentando, además, las ventajas de que son de fácil aplicación, muy efectivos y permiten tomar otro tipo de medidas posteriormente (Valenciano, 2000).

Los hongos fitófagos existentes en el suelo o que pueden ir adheridos a la semilla van a causar destrucción de éstas o bien caída prematura de plántulas (*damping-off*) durante el periodo siembra-establecimiento (Valenciano, 2000). En León, son varios los hongos responsables de estas pérdidas de semillas o plántulas, principalmente *Fusarium spp.*, *Pythium spp.* y *Rhizoctonia solani* (Boto y Reinoso, 1996).

Se ha constatado que el tratamiento de las semillas con fungicidas sistémicos o protectores incrementa la germinación y el crecimiento de las plántulas y reduce el *damping-off* durante el periodo de preemergencia de los cultivos (Verma y Vyas, 1977), aunque no todos los hongos responden al mismo tratamiento. Para la desinfección y protección de la semilla se realizan tratamientos, por vía húmeda o por vía seca, con distintos productos que recubren la semilla, bien usados individualmente o bien como mezclas (Dhingra *et al*, 1980); dentro del control integrado, el mínimo tratamiento químico es el tratamiento de la semilla (Porta-Plugia y Aragona, 1997).

Baudet y Teichert (2006), mencionan lo siguiente:

El tratamiento es una realidad cuando se trata de incrementar el desempeño de semillas, sobre todo en aquellas especies, variedades e híbridos de alto valor; este proceso implica productos, formulaciones, combinaciones, "coatings" y equipos; el objetivo es proteger las semillas y aumentar su desempeño en el campo, ya sea en el establecimiento inicial del cultivo o durante su ciclo vegetativo.

Si la siembra no es realizada en condiciones ideales y si las semillas no están protegidas, el riesgo de tener que volver a sembrar es muy grande, con los consiguientes perjuicios para el agricultor; en tal sentido, es obvio pensar que las superficies sembradas con semillas no tratadas por agricultores que todavía no comprenden la importancia fundamental de esa práctica, están condenadas a generar grandes pérdidas financieras. La razón de la importancia de esta práctica radica en tres aspectos: a) valor agregado para la semilla por la protección; b) herramienta para aumentar la producción y la calidad; y c) gestión más flexible del cultivar.

Los productos de protección son indispensables para asegurar una buena emergencia de las semillas en el campo, protegiéndolas contra hongos e insectos del suelo; para no diseminar patógenos que puedan ser transmitidos por semillas infectadas y que puedan provocar daños a las plantas de los cultivos no resistentes a ciertos patógenos; y también ofrecen una garantía adicional al establecimiento de una población adecuada.

Actualmente, un buen tratamiento de semillas debe considerar los siguientes aspectos: Seguridad, amplio espectro, eficacia, y costo; en el futuro, los aspectos más importantes que deben considerarse son: a) mayor espectro (para patógenos transmitidos por semillas, por el suelo y foliares); b) La fitotoxicidad para la semilla será de mayor preocupación; c) reducción del impacto ambiental; d) compuestos más complejos como combinaciones con fungicidas, insecticidas, inoculantes, micronutrientes, protectores de herbicidas biológicos y coatings, y e) monitoreo de la sanidad de la semilla.

Los principales beneficios de un buen tratamiento de semillas son: a) cobertura uniforme, b) color mejorado, c) mejor adherencia, d) mejor calidad visual, y e) flujo más rápido en la sembradora.

En cuanto al tratamiento de semillas, se deben tomar en cuenta los siguientes aspectos: a) mayor disponibilidad de equipos para su aplicación en forma líquida, b) menores dosificaciones, c) nuevos productos, d) mayor precisión y monitoreo, e) mejores periféricos, y f) certificación del tratamiento para semillas de alto valor.

3.13. Datos meteorológicos y edáficos del Valle del Paiwa, Pinto Recodo y San Roque de Cumbaza

- **Valle del Paiwa.** Este valle se encuentra ubicado a una altitud de 453 - 1600 m.s.n.m (APECO, 2002), con una temperatura de 18 a 30 °C y una precipitación de 3000 mm anual (CIMA, 2002).

Cuadro 4: Análisis de suelo: Caracterización del Valle del Paiwa

ANÁLISIS MECÁNICO					pH	CaCO ₃ %	M. O. %	P ppm	K ₂ O Kg / Ha	CAMBIABLES			
C.E.	Arena %	Limo %	Arcilla %	Textura						CIC	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺
				Frac. Arenoso						meq / 100 g de suelo			
2,02	66,8	10,8	22,4		6,75	1,23	4,05	7,5	152	27,4	22,5	4,5	0,13

Fuente: Laboratorio de análisis de suelos – FCA – UNSM

- **Pinto Recodo.** Se ubica a una altitud de 1060 m.s.n.m (INEI, 2005), con una temperatura de 19,80 a 26,76 °C y una precipitación de 2200 mm anual (Ministerio de Agricultura).

Cuadro 5: Análisis de suelo: Caracterización de Pinto Recodo

ANÁLISIS MECÁNICO					pH	CaCO ₃ %	M. O. %	P ppm	K ₂ O Kg / Ha	CAMBIABLES			
C.E.	Arena %	Limo %	Arcilla %	Textura						CIC	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺
										meq / 100 g de suelo			
3,08	32,8	22,8	44,8	Arcilloso	7,27		3,12	12	304	13,39	10,5	2,5	0,39

Fuente: Laboratorio de análisis de suelos – FCA - UNSM

- **San Roque de Cumbaza.** Se ubica a una altitud de 830 m.s.n.m, con una temperatura de 22 a 26 °C y una precipitación de 841 mm anual (CEDISA, 2002).

Cuadro 6: Análisis de suelo: Caracterización de San Roque de Cumbaza

ANÁLISIS MECÁNICO					pH	CaCO ₃ %	M. O. %	P ppm	K ₂ O Kg / Ha	CAMBIABLES			
C.E.	Arena %	Limo %	Arcilla %	Textura						CIC	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	K ⁺
										meq / 100 g de suelo			
2,3	40	18	42	Arcilloso	6,33		2,85	11	109	14,14	11,7	2,3	0,14

Fuente: Laboratorio de análisis de suelos – FCA - UNSM

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del experimento

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín; ubicado en la Ciudad Universitaria – Morales.

4.1.1. Ubicación geográfica

Latitud sur	:	06° 29' 40"
Longitud Oeste	:	76° 27' 55"
Altitud	:	295 m. s. n. m.

4.1.2. Ubicación política

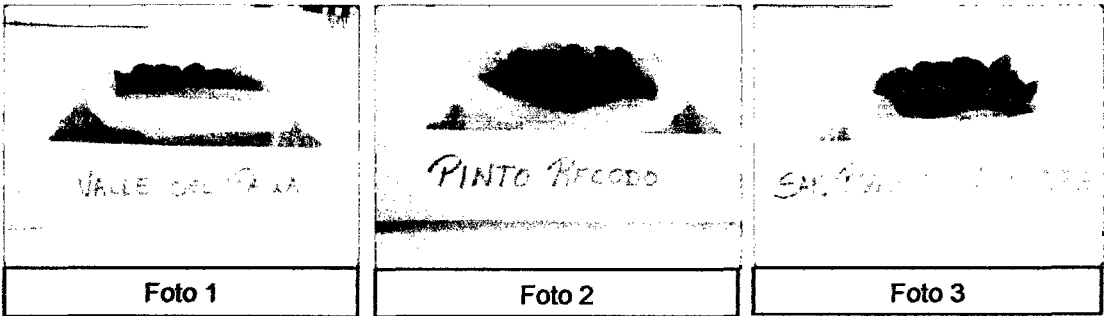
Distrito	:	Morales
Provincia	:	San Martín
Región	:	San Martín

4.2. Recolección de las semillas

Se recolectó en bolsas varias muestras de semillas de *Plukenetia volubilis* L. del Valle del Paiwa, Pinto Recodo y San Roque de Cumbaza; y se trasladó al Laboratorio de Sanidad Vegetal donde se realizó el análisis patológico.

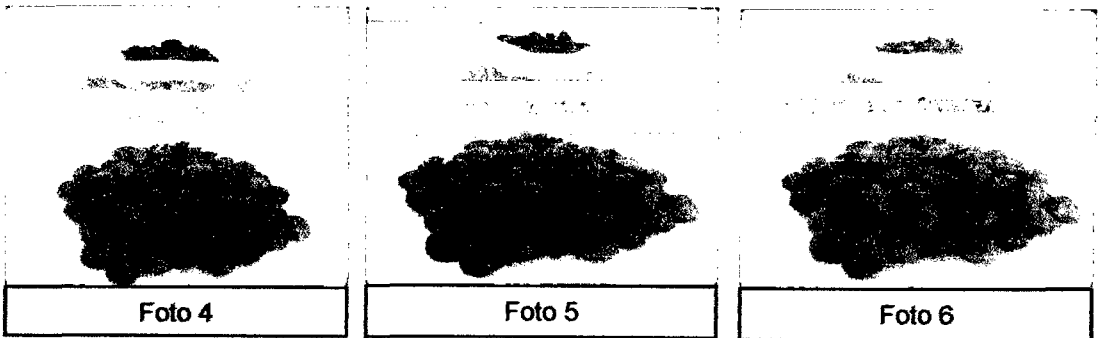
4.3. Muestreo de las semillas

Se realizó tomando como punto de referencia 10 sacos de semilla de *Plukenetia volubilis* L. por lugar, tomando de estos 100 g de semilla, obteniendo de esta manera 1 Kg de semilla/lugar y un total de 3 Kg de semilla por los 3 lugares. Posteriormente se sacó la muestra representativa que fue 500 g por lugar; trabajando de esta manera con 1,5 Kg de semillas.



4.4. Distribución de semillas

De la muestra representativa se tomó 100 semillas al azar, separando en 2 grupos: a) semillas aparentemente sanas sin desinfectar (SASSD) los cuales fueron sembradas en 5 cámaras húmedas, cada uno con 10 semillas; y b) semillas aparentemente sanas desinfectas (SASD) con hipoclorito al 3 % y fue distribuida en cámaras húmedas similar al procedimiento anterior.



4.5. Desinfestación

Consistió en depositar las semillas en un vaso de precipitación conteniendo un desinfectante (hipoclorito de sodio al 3 %) por un tiempo de 2 minutos, luego se enjuagó con agua destilada esterilizada y posteriormente se trasladó al papel toalla para el secado de las semillas.

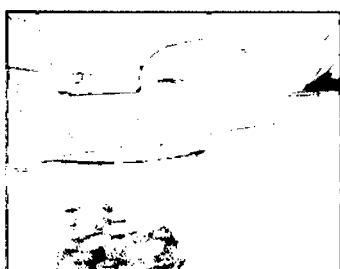


Foto 7: Hipoclorito de sodio al 3% por 2 minutos



Foto 8: Enjuague con agua destilada esterilizada

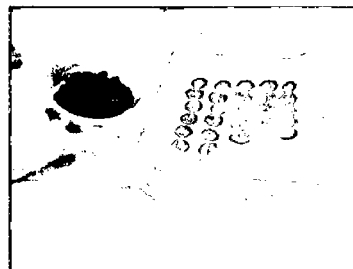


Foto 9: Secado de las semillas

4.6. Preparación de la cámara húmeda

En caja petri, previamente acondicionada con papel toalla de color blanco en donde se depositó 10 semillas por unidad y se procedió a humedecer con agua destilada estéril (cámara húmeda) con la finalidad de dar condiciones favorables en el proceso de incubación de los patógenos; la incubación duró 7 días. Sobre las semillas eflorecieron hongos de donde se procedió a aislarlo para obtenerlas puras.

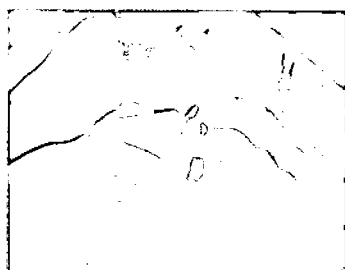


Foto 10: Corte del papel toalla



Foto 11: Colocando las semillas sobre la caja petri acondicionada



Foto 12: Humedeciendo la caja petri con las semillas

4.7. Preparación del medio de cultivo para hongos

Para la preparación del medio de cultivo se pesaron en una balanza de torsión 200 g de papa sin pelar, 20 g de agar agar en tiras, 20 g de glucosa. Los 200 g de papa se picaron y se cocieron en vaso de precipitación de vidrio con 500 ml de agua en el horno microondas durante 15 minutos. Los 20 g de agar agar en tiras se cortaron en trocitos y en un vaso de precipitación con 500 ml de agua se disolvieron utilizando el horno microondas. Filtrado el caldo de papa y agar agar en el tamiz se procedió a mezclarlo, agregándole los 20 g de glucosa, para completar a 1000 ml de Agar Agar al 2 % glucosado se añadió agua. El medio de cultivo se distribuyó en botellas de vidrio (100 ml) utilizando un embudo, seguidamente se cerró la boca del frasco con algodón y esto se aseguró con tapas de papel. Se esterilizó en húmedo, utilizando el autoclave a 121 °C, 1 atm durante 20 minutos, enfriamos y se almacenó bajo refrigeración a ± 4 °C.

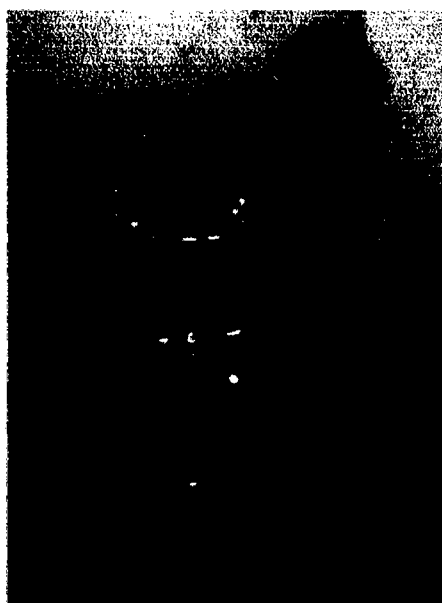


Foto 13: Esterilización medio de cultivo PDA 2%



Foto 14: Medio de cultivo PDA 2%

4.8. Preparación del agar nutritivo

Para la preparación del agar nutritivo se mezcló 40 g de harina de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) 1,5 g de extracto de carne, 5 g de dextrosa, 2,5 g de cloruro de sodio y 7,5 g de agar agar en 500 ml de agua destilada (fórmula propia). En vaso de precipitación se depositaron y utilizando el microondas se cocieron durante 7 minutos, luego se tamizaron, seguidamente se distribuyó 100 ml por botellas de vidrio de capacidad 330 ml y se esterilizaron en húmedo, utilizando el autoclave a 121 °C, 1 atm durante 20 minutos, enfriamos y se almacenó bajo refrigeración a ± 4 °C.

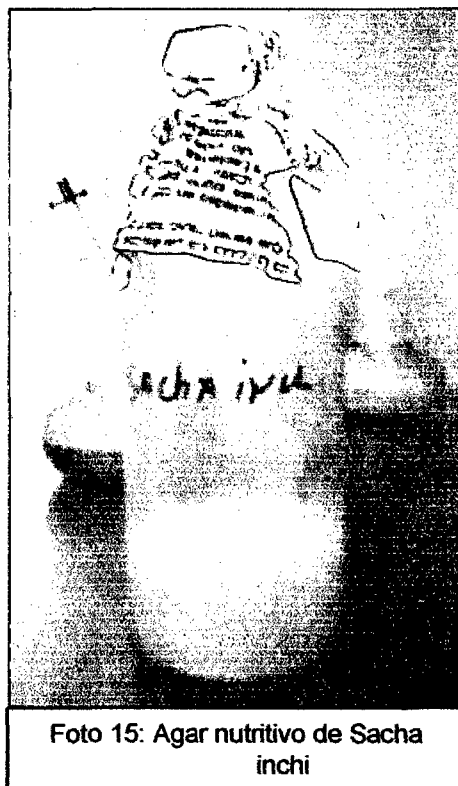


Foto 15: Agar nutritivo de Sacha inchi

4.9. Distribución del medio de cultivo.

Para la distribución del medio de cultivo, primero se disolvió en el horno microondas durante 7 minutos, se dejó enfriar hasta 50 °C, momento en que se adicionó amoxicilina a una equivalencia de 50 ppm por 100 ml del medio (500 ppm/l del medio). En cajas de petri esterilizadas a calor seco a 130 °C ± 2 , durante 60 minutos se distribuyó aproximadamente 20 ml del medio de cultivo por caja petri.

4.10. Aislamiento

a) Aislamiento de hongos

Utilizando una pinza esterilizada se trasladó la semilla de la cámara húmeda que presentaban infestación aparente de hongos, a la caja petri conteniendo el medio de cultivo esterilizado PDA (Agar papa dextrosa), colocándola en el centro. Luego se procedió a sellar las cajas petri



Foto 16: Aislamiento de hongos

con un plástico, para evitar la contaminación y luego se etiquetó. Las cajas petri sembradas pasaron por un periodo de incubación bajo las condiciones ambientales (24 – 30 °C) del laboratorio a medida que iba desarrollando el hongo se hizo reaislamiento para purificar el hongo.

b) Aislamiento de bacterias

El aislamiento de las bacterias se hizo después de la prueba de patogenicidad de los hongos, ya que hubo gran cantidad de semillas infectadas por bacterias las cuales fueron aisladas con la ayuda del asa de kolle desinfectada sobre cajas petri conteniendo agar nutritivo solidificado, sembrándolo en forma de estrías.

4.11. Repique

Se empleó una espátula esterilizada para el traslado del micelio a las cajas petri conteniendo el medio de cultivo esterilizado PDA (Agar papa dextrosa), al centro de ésta. Luego se selló las cajas petri con un plástico transparente,

para evitar la contaminación y así poder numerarlas para su fácil identificación.

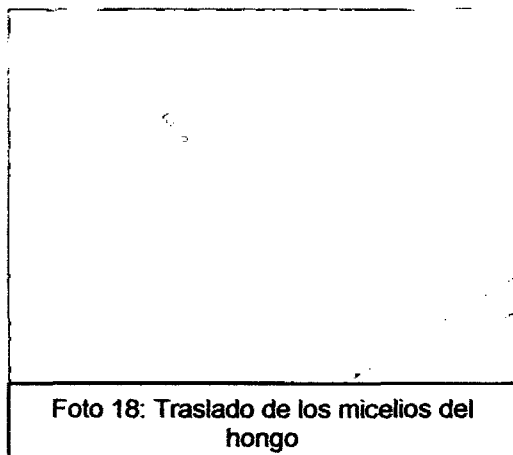


Foto 18: Traslado de los micelios del hongo

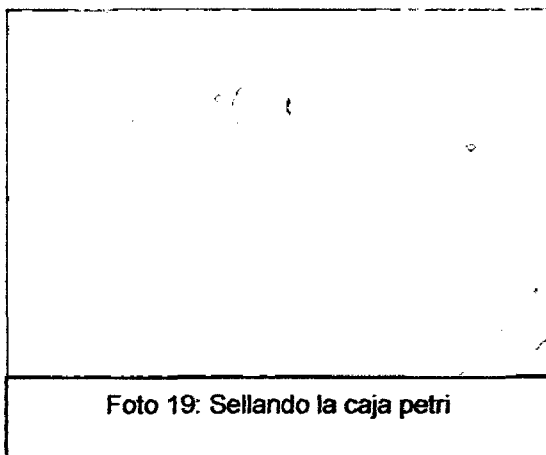


Foto 19: Sellando la caja petri

4.12. Identificación de los patógenos

Después del aislamiento y repique se procedió a la identificación de los hongos; con la ayuda del microscopio compuesto y la clave taxonómica de Barneth y Hunter (1972), Ellis (1971, 1976), Hanlin (1990).

También se contó con la presencia del ing. Eybis Flores García, asesor de mi

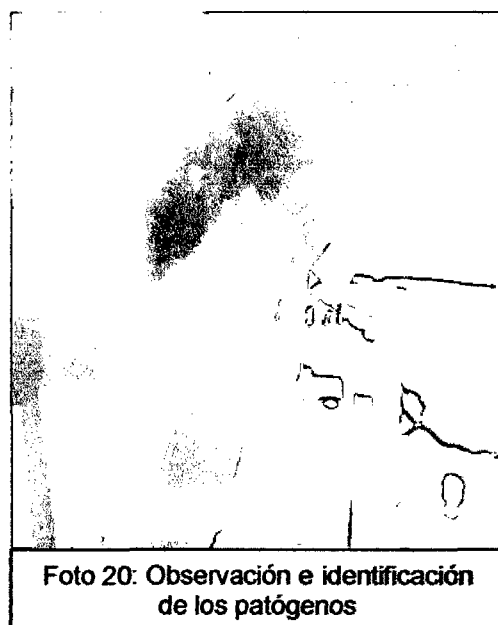


Foto 20: Observación e identificación de los patógenos

tesis y especialista en fitopatología de la UNSM – T, para la identificación de las bacterias, se usó la coloración Gram, mediante el método de gram, para verificar si es gram + ó gram – y la forma; con la ayuda de un microscopio compuesto.

4.13. Prueba de patogenicidad

Se realizó inoculando los patógenos puros previamente cultivados y aislados en cajas petri sobre las semillas de *Plukenetia volubilis* L. desinfectadas en el baño maría a 50 °C por 20 minutos. La inoculación consistió en poner en contacto las semillas con los micelios de los hongos previamente cultivados, para luego ser sembrados en 54 recipientes a razón de 3 semillas/recipiente conteniendo suelo esterilizado en autoclave a 130 °C/2horas. También se inoculó en el cuello de las raíces de las plántulas que crecieron y en las nervaduras y limbo de hojas en plantas adultas; todas estas inoculaciones en heridas.



Foto 21: Llenado de bolsas



Foto 22 - 23: Inoculando semilla de Sacha inchi

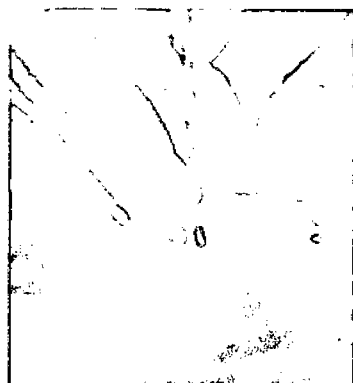


Foto 24: Herida al cuello de la raíz

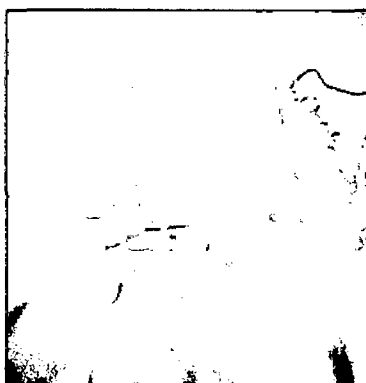


Foto 25: Sacando muestra de micelio

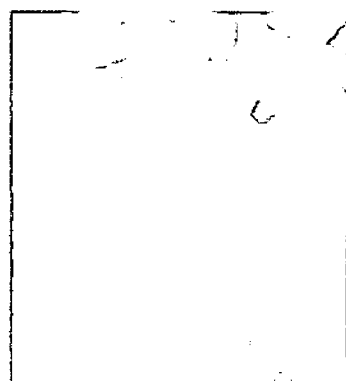


Foto 26: Inoculando en la herida



Foto 27: Dando humedad a la inoculación

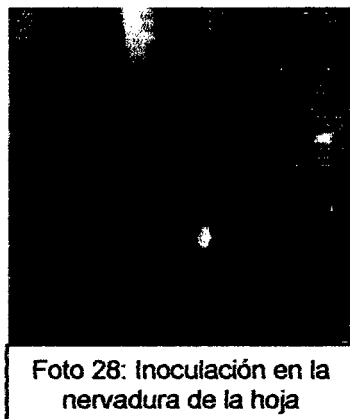


Foto 28: Inoculación en la nervadura de la hoja

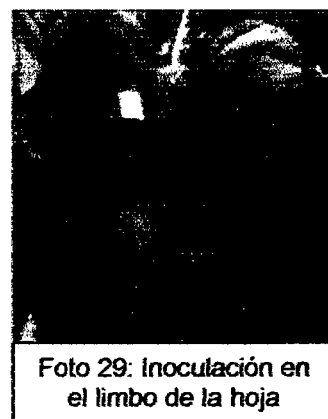


Foto 29: Inoculación en el limbo de la hoja

4.14. Prueba de alimento envenenado

Una vez obtenido los patógenos puros sobre el medio de cultivo (PDA), se procedió a la preparación del medio; después de la esterilización se dejó enfriar hasta 50 °C, momento en que se adicionó amoxicilina, para luego mezclarlo con fungicida (alimento envenenado) a dosis que se menciona en el cuadro 7 y después distribuirlos en cajas petri esterilizadas. Cada hongo patógeno en estudio fue expuesto a cada uno de los fungicidas con 5 repeticiones, más un testigo libre de fungicida también con cinco repeticiones.

Cuadro 7: Fungicidas químicos y dosis en estudio.

Claves	Fungicidas		Dosis
	Nombre Técnico	Nombre Comercial	0/00
1	Propanocarb	Ruvicur-N	2,0
2	Methiram	Polyram DF	2,5
3	Tiofanate Metil + Thiram	Homai WP	2,5
4	Metalaxil (8%) + Mancozeb (64%)	Ranchapap	3,0
5	Metalaxil (4%) + Mancozeb (64%)	Ridomil gold MZ68WP	3,0
6	Tebuconazole	Orius 25 EW	1,0
7	Flutolamil + Captan	Parachupadera	2,5
8	Mancozeb	S-Kekura	3,0
9	Benomilo	Benlate	0,75
10	Testigo	Testigo	----



Foto 30 – 31: Preparación de los alimentos envenenados

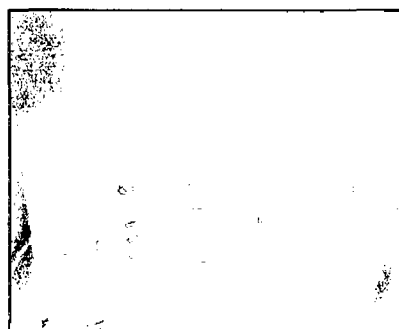


Foto 32: Instalación de la prueba de alimento

4.15. Reaislamiento

Esta labor se efectuó a las semillas, cuello de las raíces y hojas que presentaron los primeros síntomas de infección causado por el patógeno inoculado en cada uno de las partes mencionadas para comprobar si el patógeno inoculado es el agente causal de la enfermedad.

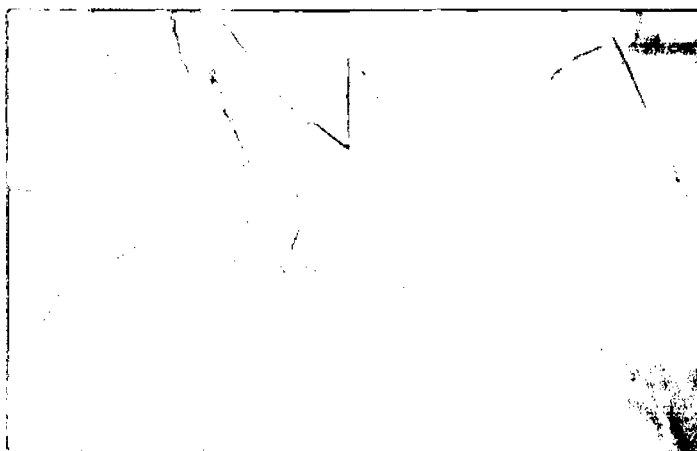


Foto 33 – 34: Toma de muestras de los síntomas después de la inoculación

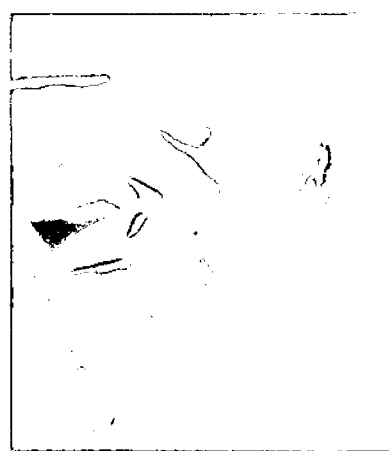


Foto 35: Aislamiento de las muestras después de la inoculación

4.16. Parámetros evaluados

- a) **Porcentaje de infestación de la semilla del *Plukenetia volubilis* L. observados en cámara húmeda.**

Se evaluó cuando las semillas aparentemente sanas desinfectadas con hipoclorito de sodio al 3 % (SASD) y sin desinfectar (SASSD), estaban acondicionadas en una cámara húmeda por 7 días, para luego ir separando las semillas sin infestación o limpias, las semillas contaminadas con *Aspergillus* sp. y las semillas que presentaron síntomas de infestación de hongos a identificar. Esta evaluación se realizó 5 pruebas por cada tratamiento y lugar, cada prueba contenía 10 semillas de *Plukenetia volubilis* L., sumando 100 semillas trabajadas por lugar, tal como se muestra en el cuadro 8.

Cuadro 8: Instalación de las cámaras húmedas con dos tratamientos de tres lugares diferentes.

Procedencia de Semillas	Nº de Prueba por lugar		Nº de Semillas por prueba		Nº de Semillas por tratamiento		Total de semillas
	SASD	SASSD	SASD	SASSD	SASD	SASSD	
Valle del Paiwa	5	5	10	10	50	50	100
Pinto Recodo	5	5	10	10	50	50	100
San Roque de Cumbaza	5	5	10	10	50	50	100

SASD: Semillas aparentemente sanas, desinfectadas con Hipoclorito de sodio al 3 %
SASSD: Semillas aparentemente sanas, sin desinfectar

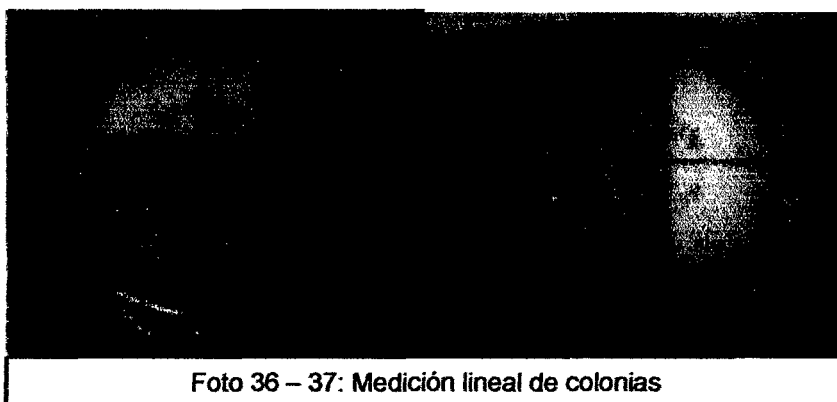
- b) **Características biométricas**
- **Tiempo de colonización**

Se contó los días desde la siembra del micelio, hasta que el hongo haya cubierto toda la caja petri con su colonia. A esta evaluación

entraron todos los hongos puros agrupados por número de muestras según sus características.

- **Medición lineal de colonias**

Se delineó desde la parte central de la caja petri en forma de cruz, para luego con la ayuda de una regla, medir el diámetro de la colonia y así visualizar mejor el crecimiento de las colonias.



- **Medición de estructuras del patógeno**

Se ejecutó con la ayuda de un estilete, sacando una pequeña muestra de medio conteniendo el patógeno puro para ubicarlos en una lámina conteniendo una gota de lactofenol o azul de algodón (cotton blue), después se tapó con la



Foto 38: Medición de estructuras del patógeno

laminilla de vidrio, inmediatamente se calentó en la llama del

mechero de alcohol. Fijada la muestra se procedió a analizar en el microscopio compuesto y con la ayuda de la escala micrométrica se midieron las estructuras de los microorganismos en estudio.

c) Características morfológicas

Esta evaluación se realizó microscópicamente determinando la forma y el color de la estructura del hongo. Para el color de colonias se determinó en forma directa en caja petri.

d) Pruebas de patogenicidad

Para la evaluación de este parámetro se procedió a observar a cada semilla sembrada e inoculada, para saber la causa por el cual no germinaron que podrían ser causadas por el patógeno inoculado. Esta labor se llevó a cabo a los 25 días después de la siembra en bolsas de polietileno conteniendo suelo esterilizado.

Al notar la poca infección en semillas, también se realizó inoculaciones para la prueba de patogenicidad en el cuello de las raíces y en las hojas de las plántulas que germinaron, todas con heridas.

e) Prueba de alimento envenenado

Este parámetro se evaluó realizando mediciones al crecimiento de la colonia con la ayuda de una regla (cm), a cada una de las cajas petri instaladas con alimento envenenado en forma diaria hasta que los testigos (con medio de cultivo PDA limpio) llenen las cajas petri.

V. RESULTADOS

5.1. Infestación e infección de la semilla del *Plukenetia volubilis* L.

Cuadro 9: Infestación e infección de la semilla del *Plukenetia volubilis* L. coleccionadas del Valle del Paiwa (V.P), de los distritos de Pinto Recodo (P.R) y San Roque de Cumbaza (S. R. C) luego de incubadas en cámara húmeda.

Respuestas	SASD (%)			SASSD (%)		
	V. P	P. R	S. R. C	V. P	P. R	S. R. C
Semillas infectadas e infestadas con hongos a identificar (%)	24	24	32	30	66	54
Semillas infestadas por el hongo <i>Aspergillus</i> sp. (%)	12	0	0	60	2	0
Semillas no infestadas (%)	64	76	68	10	32	46
Total (%)	100	100	100	100	100	100

SASD: Semillas aparentemente sanas, desinfestadas con Hipoclorito de sodio al 3 %

SASSD: Semillas aparentemente sanas, sin desinfestar

En la semilla procedente del Valle Paiwa, perteneciente al departamento de Loreto, límite con el departamento de San Martín (Cuadro 9); sin desinfectar se observó 30 % de semillas infestadas o infectada por hongos sin identificar, 60 % de infestadas por *Aspergillus* sp., es posible que esta alta infestación se debe a las temperaturas 18 a 30 °C y humedad relativa alta 90 a 100 %, además las semillas fueron transportadas con parte del endocarpio que contenían humedad mayor al 14 %, el cual indica que existía alta

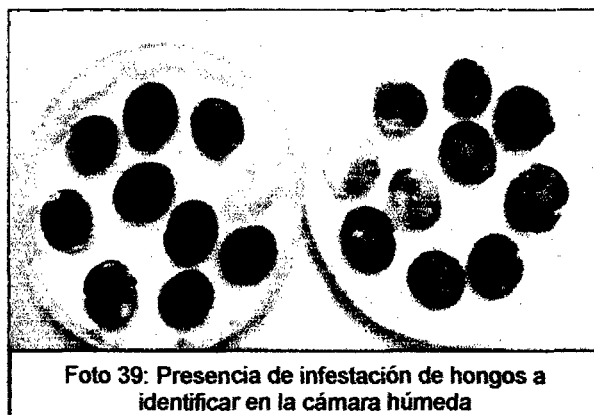


Foto 39: Presencia de infestación de hongos a identificar en la cámara húmeda

respiración y transpiración y 10 % de semillas libres de hongos; aplicando el desinfectante se reduce a 24 % de semillas infectadas por hongos desconocidos, a 12 % del hongo *Aspergillus* sp, y 64 % de semillas libre de hongos. En semillas colectadas del distrito de Pinto Recodo, en donde no se desinfectaron con NaClO se observaron 66% de semillas infestadas con hongos desconocidos, 2 % de semillas infectadas por *Aspergillus* sp. y 32 % de semillas libre de hongos; pero en las semillas desinfectadas con NaClO se observó 24 % de semillas infectadas por hongos desconocidos y 76 % de semillas libres de hongos. Mientras que en semillas coleccionadas del distrito de San Roque de Cumbaza, en donde no se desinfectaron con NaClO se observaron 54 % de semillas infestadas con hongos desconocidos, 46 % de semillas libre de hongos; pero en las semillas desinfectadas con NaClO se observó 32 % semillas infectadas por hongos desconocidos y 68 % de semillas libres de hongos.

Cuadro 10: Identificación de hongos por lugares de origen de las semillas

Hongos	Lugar de Procedencia de las Semillas		
	V. P	P. R	S. R. C
<i>Rhizoctonia solani</i>	+	-	-
<i>Scytalidium dimidiata</i>	+	+	-
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	+	+	+
<i>Aspergillus</i> sp	+	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	+	-	+
<i>Mucor</i> sp.	+	-	-
<i>Rosellinia</i> sp.	+	-	-
<i>Fusarium solani</i>	-	-	+

Leyenda: + presencia del hongo - No existencia del hongo

V. P: Valle del paiwa; P. R: Pinto Recodo; S. R. C: San Roque de Cumbaza

La clasificación de los hongos (Cuadro 10), se realizó utilizando el Plant Pathology de Agrios 1997 de la cuarta edición en ingles; las características se

han descrito de acuerdo a las claves taxonómicas de Ellis (1971, 1976); Barneth and Hunter (1971); Hanlin (1995) Alexopoulos and Mins 1979. Los signos positivos (+) indican la presencia de la especie de hongo en las semillas de procedencia del Valle del Paiwa (V. P), Pinto Recodo (P. R), San Roque de Cumbaza (S. R. C) y los signos negativos (-) la no presencia de hongos.

5.2. Aislamientos y estructuras de los hongos aislados de semillas de *Plukenetia volubilis* L.

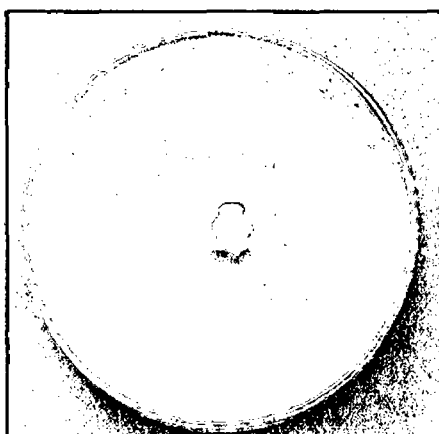


Foto 40: Colonia de *Rhizoctonia solani*

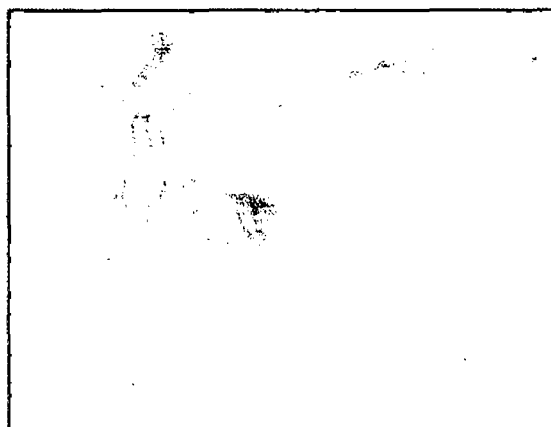


Foto 41: Micelios de *Rhizoctonia solani*



Foto 42: Colonia de *Scytalidium dimidiata*



Foto 43: Micelio, conidióforo y artrosporas de *Scytalidium dimidiata*

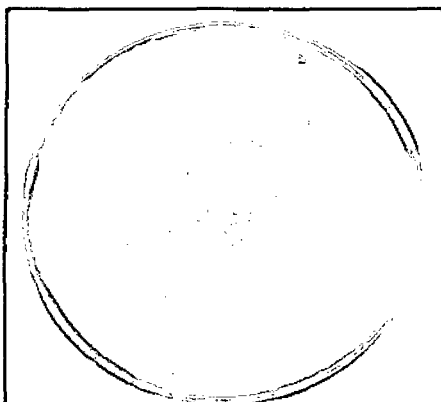


Foto 44: Colonia de *Botryodiplodia theobromae*

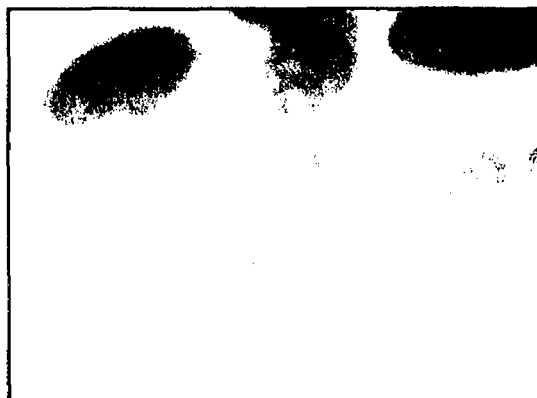


Foto 45: Conidias binucleadas de *Botryodiplodia theobromae*

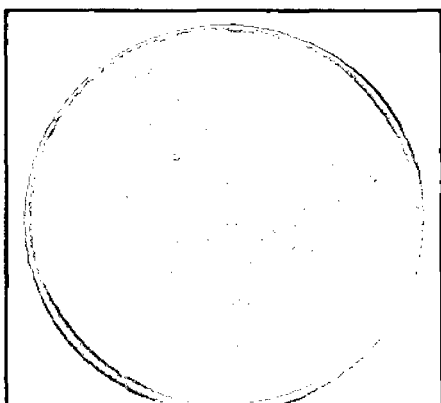


Foto 46: Colonia de *Fusarium oxysporum*

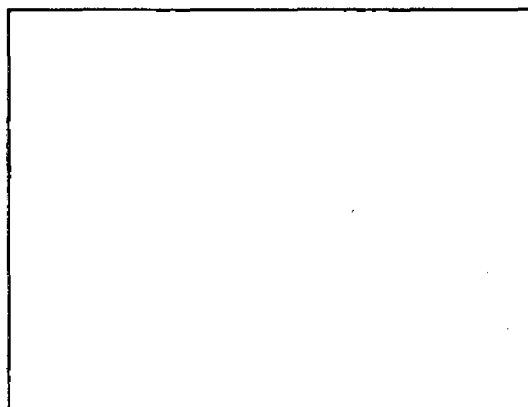


Foto 47: Micelio y conidias de *Fusarium oxysporum*

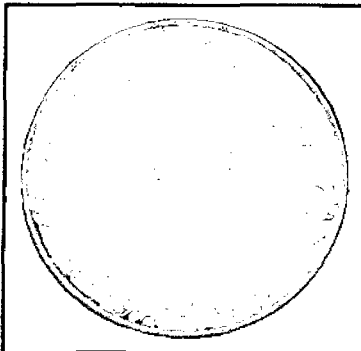


Foto 48: Colonia de *Rosellinia* sp.



Foto 49: Peritecio inmerso en estromas de *Rosellinia* sp.

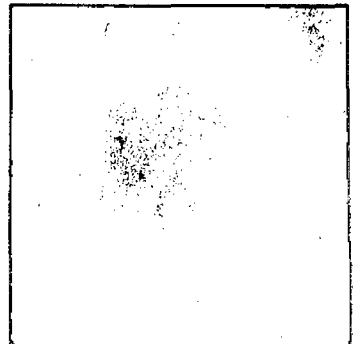


Foto 50: Ascas de *Rosellinia* sp.

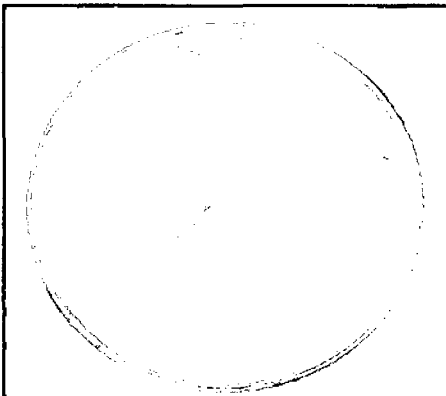


Foto 51: Colonia de *Fusarium solani*

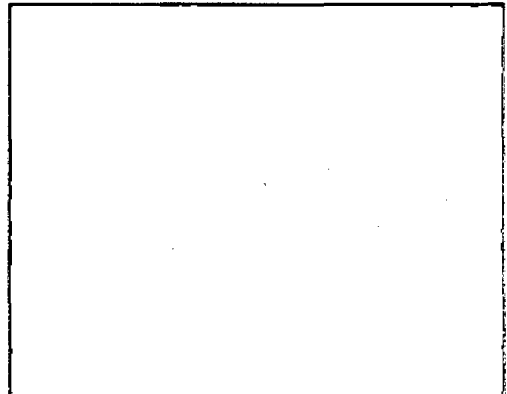


Foto 52: Micelio y conidias de *Fusarium solani*

Cuadro 11: Características morfológicas y biométricas de los microorganismos aislados de las semillas

MUESTRA	COLONIA	MICELIO	CONIDIOFOROS	CONIDIA
<i>Rhizoctonia solani</i>	Crecimiento radial con forma del borde liso, de color marrón claro.	Marrón a verde oliváceo, septados se ramifica en forma T de conservando ángulo de 90°.	No presenta conidióforos	No presenta conidias.
<i>Scytalidium dimidiata</i>	Crecimiento radial con forma del borde liso, de color verde oliváceo a negro.	Marrón oscuro a verde oliváceo, con paredes gruesas con hinchazones estromáticos, donde las hifas tienen un diámetro de 3.75 a 7.5 μm	Conidióforos de color marrón con septas uniporos, que sostienen artrosporas (conidias fragmentadas).	Diámetro de conidia tipo artrosporas hialina, de 7,5 a 10 μm y su longitud de 10 a 15 μm .
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	Crecimiento radial con forma del borde liso, de color negro, con superficie algodonosa de color gris a verde oliváceo.	Septado de color marrón oscuro acorazonado en el extremo con gutulaciones.	Conidióforo simple hialina que sostiene una conidia bicelular cuando es inmadura es hialina.	Su diámetro de las conidias es de 8,75 a 15 μm y su longitud es de 20 a 25 μm y son bicelulares con pared y septa gruesa de color marrón oscuro, forma ovoide.
<i>Aspergillus sp.</i>	Crecimiento radial en pequeñas colonias con forma del borde liso, de color negro y verde.	No septado de color hialino en forma de caña.	Conidióforos largos simples con una cabezuela en la parte superior de donde salen las fialides de donde salen las conidias unicelulares de forma celular en cadena.	Conidias circulares con diámetro de 2,5 μm formando cadenas.
<i>Fusarium oxysporum</i>	Crecimiento radial con forma del borde liso; de color blanco sucio a violáceo.	Micelios hialinos con septas uniporo.	Conidióforos largos septados hialino en la parte terminal presentan fialides de donde salen las conidias unicelulares y pluricelulares también conocidas como conidias falcadas; clamidosporas intercalares y terminales.	Conidias unicelulares, bicelulares y multicelulares, tiene la forma de ovoide a falcada con una longitud de 7,5 - 15 μm y un diámetro de 7,5 - 12,5 μm ; también presentan clamidospora.
<i>Mucor sp.</i>	Crecimiento radial con forma del borde liso, de color crema algodonoso de rápido crecimiento.	No septado de color marrón sin rizoide.	Conidióforos con umbela que sostiene esporangio.	Esporangiosporas de 2,5 a 5 μm y su longitud 2,5 a 3,75 μm .
<i>Risellinia sp.</i>	Crecimiento radial con forma del borde liso, de color blanco con cuerpo estromático marrón en forma de estrías.	Rizomicelio pronunciados de color blanco en la parte superficial y oscuro dentro del medio de cultivo. Micelios septados con hinchazones con terminaciones en forma de corazón.	No presenta conidióforos.	Ascosporas en ascas que se encuentra en peritecio de color oscuro.
<i>Fusarium solani</i>	Crecimiento radial con forma del borde liso de color blanco sucio a crema.	Micelio septado hialino que sostiene fialides.	Conidióforos largos septados hialino en la parte terminal presentan fialides de donde salen las conidias unicelulares y pluricelulares.	Conidias unicelulares, bicelulares y multicelulares, tiene la forma de ovoide a falcada con una longitud de 10 - 30 μm y un diámetro de 1,25 - 2,5 μm ; también presentan clamidospora.

5.3. Tiempo de colonización

Cuadro 12: Tiempo de colonización de los hongos en cajas Petri de 90 mm de diámetro

Muestra	Tipo colonia	Tiempo de colonización
<i>Rhizoctonia solani</i>	Crecimiento radial	6 días
<i>Scytalidium dimidiata</i>	Crecimiento radial	3 días
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	Crecimiento radial	5 días
<i>Aspergillus</i> spp.	Crecimiento radial en colonias pequeñas	9 días
<i>Fusarium oxysporum</i>	Crecimiento radial	7 días
<i>Mucor</i> sp.	Crecimiento radial	6 días
<i>Rosellinia</i> sp.	Crecimiento radial con rizomicelio	12 días
<i>Fusarium solani</i>	Crecimiento radial	9 días

Según el cuadro 12, el crecimiento de todos los hongos: *Rhizoctonia solani*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor* sp., *Fusarium solani*, *Rosellinia* sp., *Scytalidium dimidiata* y *Aspergillus* sp. es radial; teniendo *Rosellinia* sp. el crecimiento más lento y el hongo *Scytalidium dimidiata* el crecimiento más rápido en comparación al resto de los hongos. Pero *Aspergillus* sp. tiene crecimiento en colonias pequeñas y observándose cajas petri varias colonias que al unirse terminaron llenándola. Por revisión de literatura *Mucor* sp., es un contaminante de panes y *Aspergillus* sp., es un contaminante de semilla (Lazzari, 1993).

5.4. Pruebas de patogenicidad

- Prueba de patogenicidad en semillas inoculadas

La prueba de patogenicidad de los hongos inoculados en semillas de *Plukenetia volubilis* L. antes de la siembra en bolsas con sustrato esterilizado, resultando positivos con *Rhizoctonia solani* (11,11%) y *Botryodiplodia theobromae* (22,22 %), así mismo la presencia de bacterias

entre 22,22 % a 33,33 % a pesar que se hizo tratamiento a las semillas de termoterapia de 50 °C por 20 minutos. También se observó dormancia en las semillas (22,22 % a 44,44 %) y la germinación de semillas (33,34 % a 55,56 %).

Cuadro 13: Resultados en porcentaje de la prueba de patogenicidad en semillas

Semillas	T	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
Germinadas (%)	55,56	33,34	44,45	33,34	44,45	33,34	44,45	33,34	33,34
Dormancia (%)	22,22	22,22	22,22	22,22	22,22	33,33	33,33	33,33	44,44
Hongos (%)	0	11,11	0	22,22	0	0	0	0	0
Bacterias (%)	22,22	33,33	33,33	22,22	33,33	33,33	22,22	33,33	22,22

Testigo (T), *Rhizoctonia solani* (M1), *Scytalidium dimidiata* (M2), *Botryodiplodia theobromae* (M3), *Aspergillus* sp. (M4), *Fusarium oxysporum* (M5), *Mucor* sp. (M6), *Rosellinia* sp. (M7), *Fusarium solani* (M8).

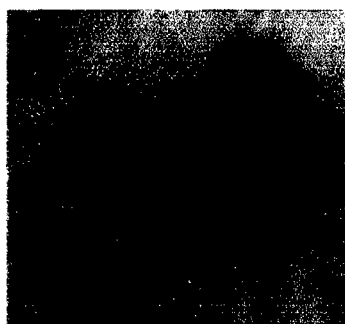


Foto 54: Semilla infectada con *Rhizoctonia solani*

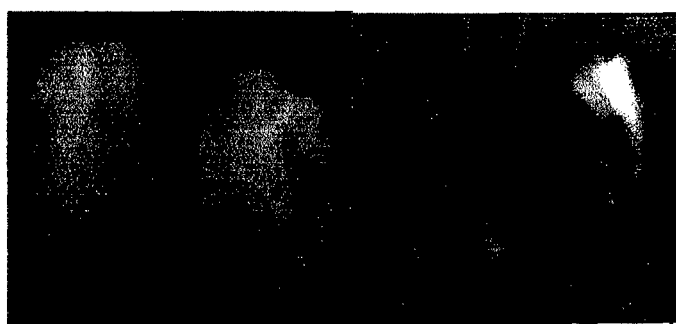


Foto 55 - 56: Semilla infectada con *Botryodiplodia theobromae*

- Prueba de patogenicidad en el cuello de la raíz inoculado

Cuadro 14: Prueba de patogenicidad en el cuello de la raíz

Muestra	Inoculación en el cuello de la raíz		
	Total	(+)	(-)
<i>Rhizoctonia solani</i>	4	4	0
<i>Scytalidium dimidiata</i>	4	1	3
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	4	3	1
<i>Aspergillus</i> sp.	4	0	4
<i>Fusarium oxysporum</i>	4	0	4
<i>Mucor</i> sp.	4	0	4
<i>Rosellinia</i> sp.	4	2	2
<i>Fusarium solani</i>	4	0	4

Resultaron positivo a la prueba de patogenicidad al cuello de la raíz los siguientes microorganismos: *Botryodiplodia theobromae*, *Scytalidium dimidiata*, *Rhizoctonia solani*, *Rosellinia* sp., demostrando que son patógenos potenciales de plántulas de *Plukenetia volubilis* L. por que afectan al cuello de la raíz, raíces secundarias y pelos absorbentes, pudiendo causarles la muerte.

Estos resultados se observa en las fotos que mostramos a continuación.

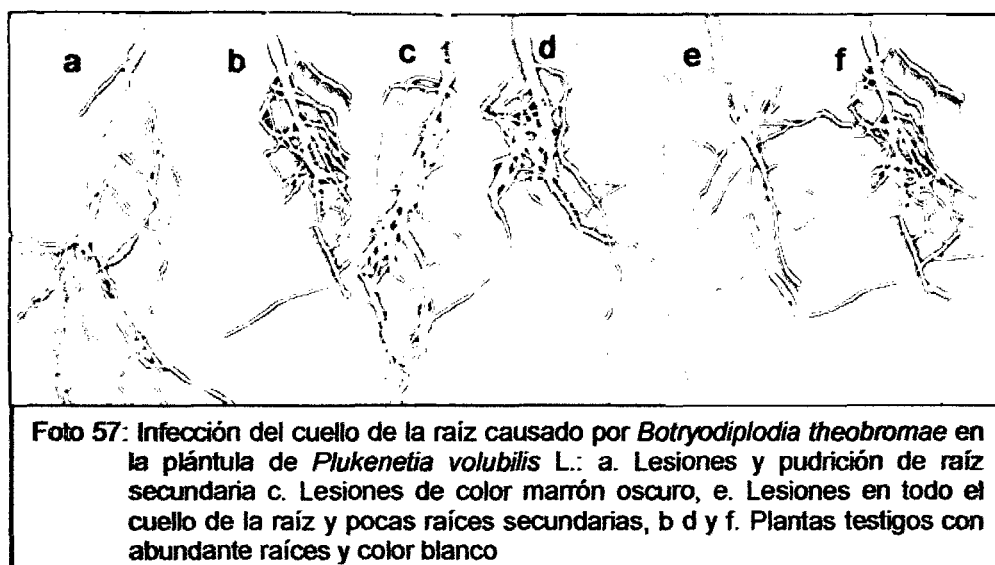




Foto 58: Infección del cuello de la raíz causado por *Scytalidium dimidiata* en la plántula del lado izquierdo



Foto 59: Callo por la herida en el cuello de la raíz pero causando infección en las raíces secundarias *Rhizoctonia solani* en la plántula del lado izquierdo



Foto 60: Callo por la herida en el cuello de la raíz pero causando infección en las raíces secundarias *Rosellinia* sp. en la plántula del lado izquierdo

- Pruebas de patogenicidad en hojas inoculadas

De las inoculaciones de los hongos en las hojas sólo mostró patogenicidad el hongo *Scytalidium dimidiata* que causó infección en forma leve a la nervadura de las hojas.

Cuadro 15: Prueba de patogenicidad en hojas

Muestra	Inoculación en nervaduras de las hojas			Inoculación en el limbo de las hojas		
	Total	(+)	(-)	Total	(+)	(-)
<i>Rhizoctonia solani</i>	4	0	4	4	0	4
<i>Scytalidium dimidiata</i>	4	1	3	4	0	4
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	4	0	4	4	0	4
<i>Aspergillus</i> sp.	4	0	4	4	0	4
<i>Fusarium oxysporum</i>	4	0	4	4	0	4
<i>Mucor</i> sp.	4	0	4	4	0	4
<i>Rosellinia</i> sp.	4	0	4	4	0	4
<i>Fusarium solani</i>	4	0	4	4	0	4

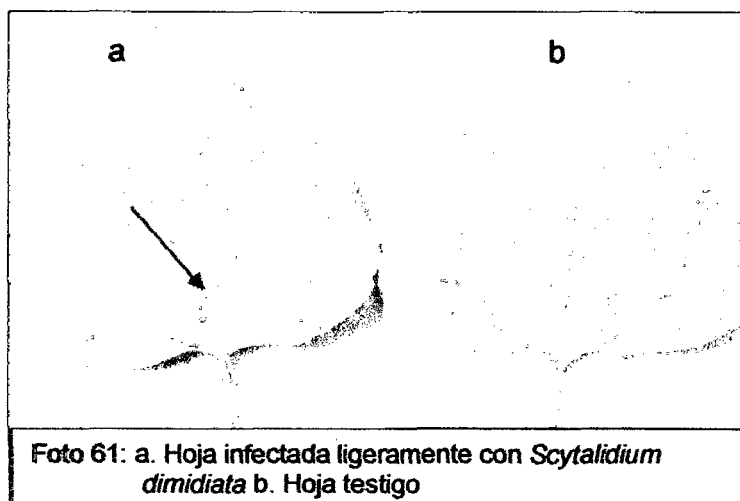


Foto 61: a. Hoja infectada ligeramente con *Scybalidium dimidiata* b. Hoja testigo

5.5. Características de las bacterias

En la prueba de patogenicidad de semillas inoculadas con hongos aislados, se observó que no hubo emergencia de las semillas, al analizar se observó escaso daño por hongos.

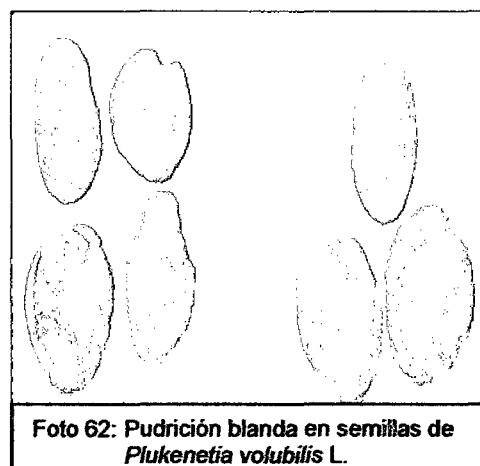


Foto 62: Pudrición blanda en semillas de *Plukenetia volubilis* L.

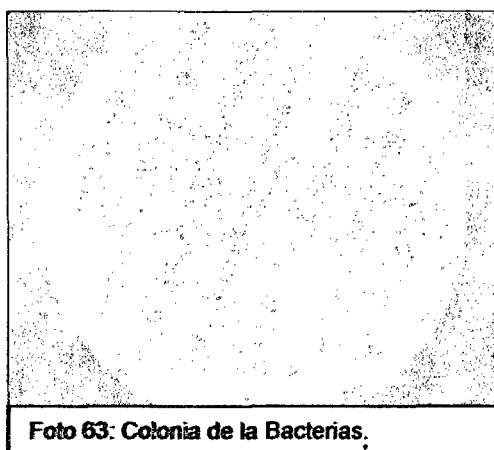


Foto 63: Colonia de la Bacterias.

Al escarificar la semilla se observó pudrición blanda en la zona embrionaria y parte de los cotiledones (foto 62). Razones por la cual nos hizo sospechar que existían bacterias y en el aislamiento se observó colonia de color crema; y al

analizar en el microscopio se determinó que las bacterias tiene forma de bastones (bacilo) de color rosado indicando que el test de gram nos arrojó negativo (foto 63).

5.6. Prueba de alimento envenenado

Cuadro 16: Análisis de Varianza de alimento envenenado con fungicida para determinar el control de *Rhizoctonia solani*. Datos transformados a $\sqrt{x+1}$.

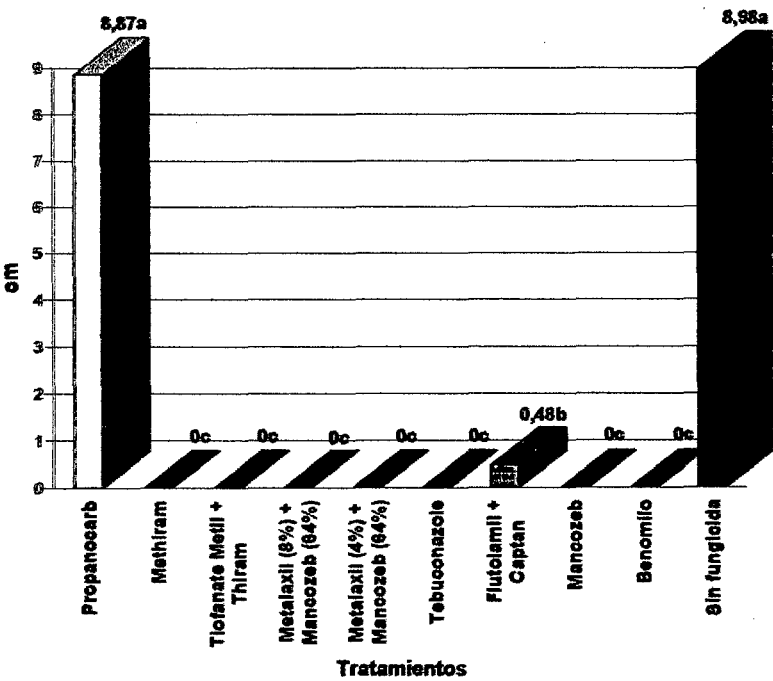
FV	GL	SC	CM	FC	Significancia
Tratamientos	9	36,2959	4,0329	976,48	**
Error	40	0,1652	0,0041		
Total	49	36,4611			

**.: Altamente significativo

$R^2 = 99,55\%$ $CV = 4,42 \%$ $CME = 0,0643$ $X = 1,4518$

La prueba de F, en el análisis de varianza, resultó altamente significativa, lo cual nos indica que existe diferencia estadística entre los tratamientos. Su coeficiente de variación ($CV = 4,42 \%$) y su coeficiente de determinación ($R^2 = 99,55 \%$) nos muestra que está dentro de los rangos aceptables para la investigación a nivel de laboratorio (Calzada, 1970).

GRÁFICO 1: Prueba de Duncan del alimento envenenado con fungicidas para el control de *Rhizoctonia solani*. Datos corregidos.



Cuadro 17: Análisis de varianza del alimento envenenado con fungicida para el control de *Scytalidium dimidiata*. Datos transformados a $\sqrt{x+1}$.

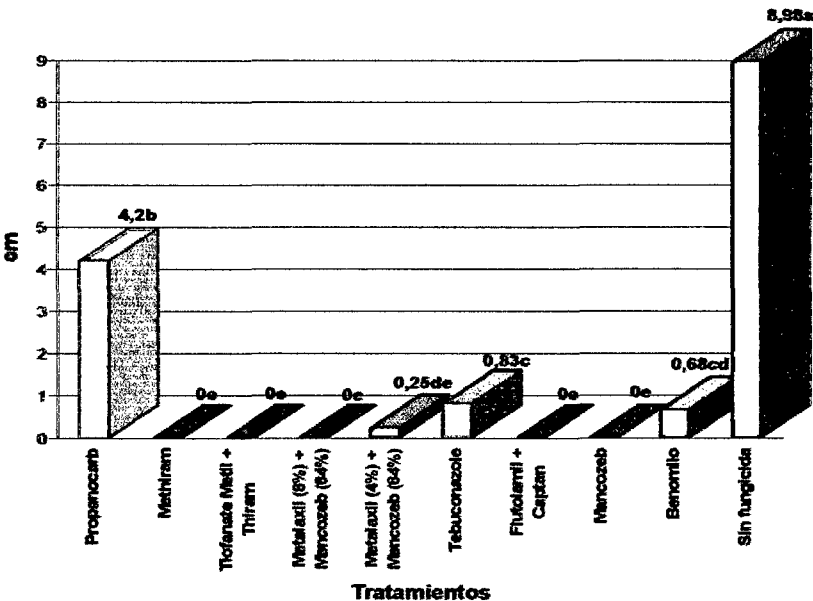
FV	GL	SC	CM	FC	Significancia.
Tratamientos	9	23,6219	2,6247	114,12	**
Error	39	0,8969	0,0229		
Total	48	24,5188			

** : Altamente significativo

$R^2 = 96,34\%$ $CV = 10,60 \%$ $CME = 0,1517$ $X = 1,4302$

La prueba de F, en el análisis de varianza, resultó altamente significativa, lo cual nos indica que existe diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos. Su coeficiente de variación ($CV = 10,60 \%$) esto se debe a la variación en las respuestas de las pruebas realizadas con respecto al crecimiento lineal de la colonia del hongo y su coeficiente de determinación ($R^2 = 96,34 \%$) nos muestra que está dentro de los rangos aceptables para la investigación a nivel de laboratorio (Calzada, 1970). También se hace mención que las variaciones se deben a las fluctuaciones de la temperatura del laboratorio que varía de 20 a 30 °C aproximadamente.

GRÁFICO 2: Prueba de Duncan del alimento envenenado con fungicidas para el control de *Scytalidium dimidiata*. Datos corregidos.



Cuadro 18: Análisis de varianza del alimento envenenado con fungicida para el control de *Botryodiplodia theobromae* Datos transformados a $\sqrt{x+1}$.

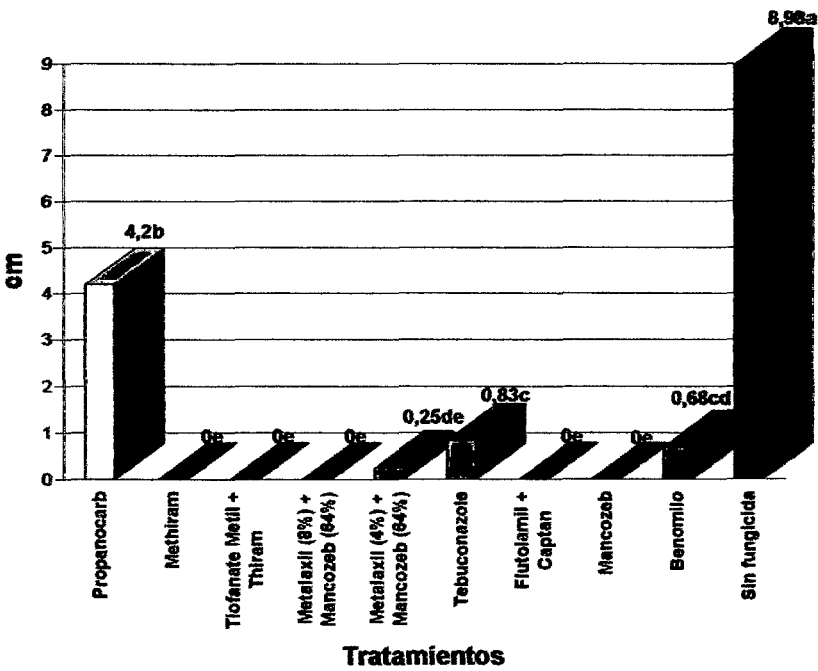
FV	GL	SC	CM	FC	Significancia
Tratamientos	9	23,6219	2,6247	114,12	**
Error	39	0,8969	0,0229		
Total	48	24,5188			

** : Altamente significativo

$R^2 = 96,34\%$ $CV = 10,60 \%$ $CME = 0,1517$ $X = 1,4302$

La prueba de F, en el análisis de varianza, resultó altamente significativa, lo cual nos indica que existe diferencia estadística entre los tratamientos. Su coeficiente de variación ($CV = 10,60 \%$) esto se debe a variación en las respuestas de las pruebas realizadas con respecto al crecimiento lineal de la colonia del hongo y a la temperatura que varía de 20 a 30 °C; y su coeficiente de determinación ($R^2 = 96,34 \%$) nos muestra que está dentro de los rangos aceptables para la investigación a nivel de laboratorio (Calzada, 1970).

GRÁFICO 3: Prueba de Duncan del alimento envenenado con fungicidas para el control de *Botryodiplodia theobromae*. Datos corregidos.



Cuadro 19: Análisis de varianza del alimento envenenado con fungicida para el control de *Fusarium oxysporum*. Datos transformados a $\sqrt{x+1}$.

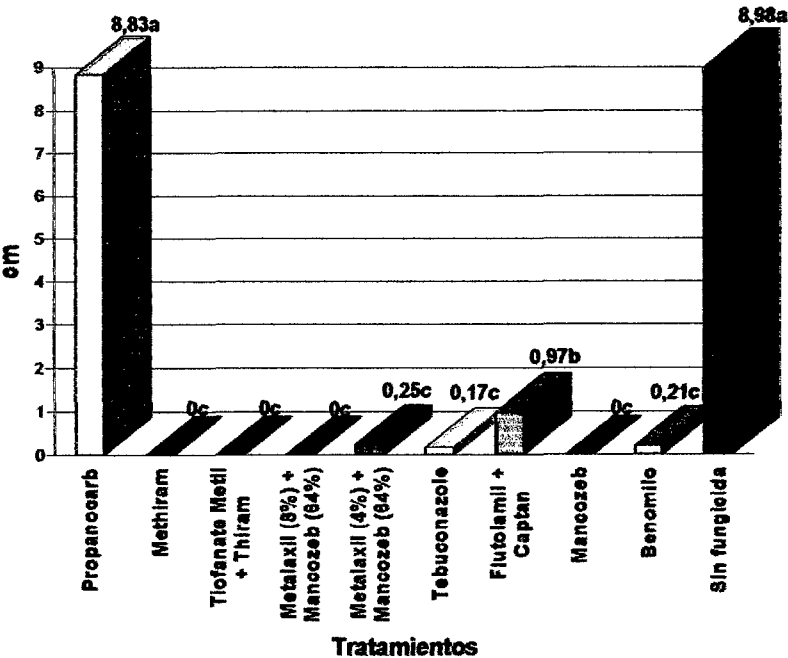
FV	GL	SC	CM	FC	Significancia
Tratamientos	9	34,5946	3,8438	108,14	**
Error	40	1,4218	0,0356		
Total	49	36,0164			

** : Altamente significativo

$R^2 = 96,05\%$ $CV = 12,57 \%$ $CME = 0,1885$ $X = 1,5004$

La prueba de F, en el análisis de varianza, resultó altamente significativa, lo cual nos indica que existe diferencia estadística entre los tratamientos. Su coeficiente de variación ($CV = 12,57 \%$) y su coeficiente de determinación ($R^2 = 96,05 \%$) nos muestra que está dentro de los rangos aceptables para la investigación a nivel de laboratorio (Calzada, 1970).

GRÁFICO 4: Prueba de Duncan del alimento envenenado con fungicidas para el control de *Fusarium oxysporum*. Datos corregidos.



Cuadro 20: Análisis de varianza del alimento envenenado con fungicida para el control de *Rosellinia* sp. Datos transformados a $\sqrt{x+1}$

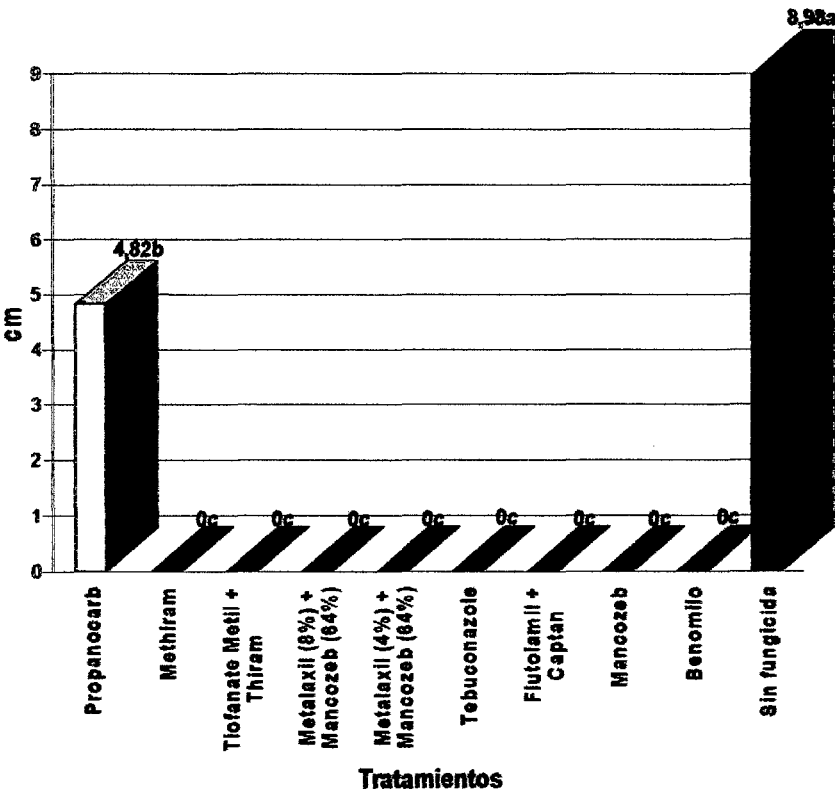
FV	GL	SC	CM	FC	Significancia
Tratamientos	9	26,9382	2,9931	117,55	**
Error	40	1,0185	0,0255		
Total	49	27,9567			

** : Altamente significativo

$R^2 = 96,36\%$ $CV = 11,76 \%$ $CME = 0,1596$ $X = 1,3574$

La prueba de F, en el análisis de varianza, resultó altamente significativa, lo cual nos indica que existe diferencia estadística entre los tratamientos. Su coeficiente de variación ($CV = 11,76 \%$) y su coeficiente de determinación ($R^2 = 96,36 \%$) nos muestra que está dentro de los rangos aceptables para la investigación a nivel de laboratorio (Calzada, 1970).

GRÁFICO 5: Prueba de Duncan del alimento envenenado con fungicidas para el control de *Rosellinia* sp. Datos corregidos.



Cuadro 21: Análisis de varianza del alimento envenenado con fungicida para el control de *Fusarium solani*. Datos transformados a $\sqrt{x+1}$

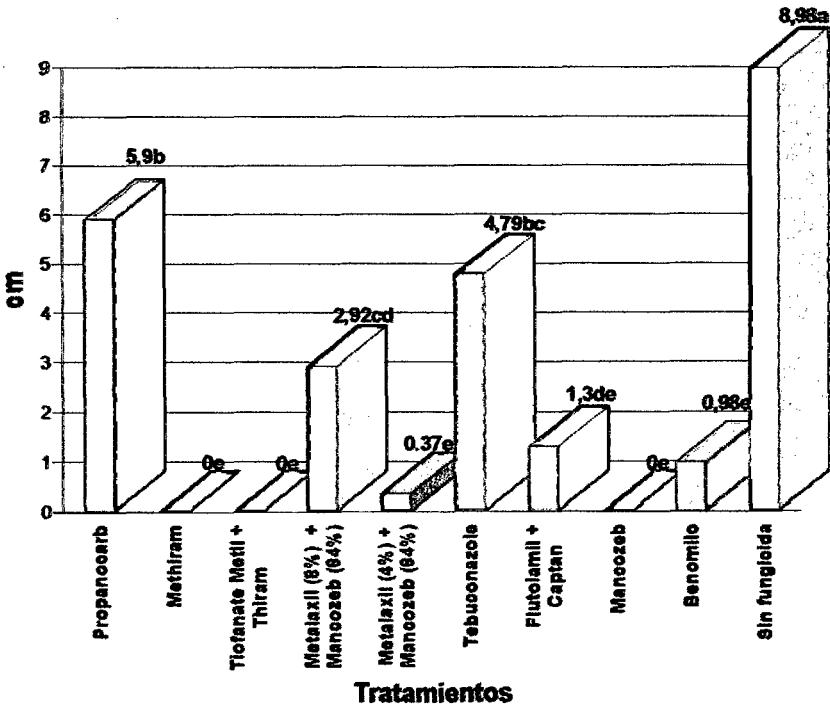
FV	GL	SC	CM	FC	Significancia
Tratamientos	9	27,1542	3,0171	20,61	**
Error	40	5,8549	0,1464		
Total	49	33,0091			

** : Altamente significativo

$R^2 = 82,26\%$ $CV = 22,15 \%$ $CME = 0,3826$ $X = 1,7276$

La prueba de F, en el análisis de varianza, resultó altamente significativa, lo cual nos indica que existe diferencia estadística entre los tratamientos. Su coeficiente de variación ($CV = 22,15 \%$) y su coeficiente de determinación ($R^2 = 82,26 \%$) nos muestra que está dentro de los rangos aceptables para la investigación a nivel de laboratorio (Calzada, 1970).

GRÁFICO 6: Prueba de Duncan del alimento envenenado con fungicidas para el control de *Fusarium solani*. Datos corregidos.



VI. DISCUSIONES

6.1. Porcentaje de infestación de la semilla del *Plukenetia volubilis* L. observadas en la cámara húmeda

En el cuadro 9 se observa mayor presencia de hongos sin identificar cuando no se desinfecta con hipoclorito de sodio, esto nos indica que existen hongos en la superficie de la semilla o sea en la parte externa; pero al aplicar hipoclorito de sodio al 3 % se observa la reducción de hongos sin identificar, también el hongo *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus*. La contaminación que se observa se debe a semillas que han tenido infección por hongos en su cápsula y por otro lado al momento de secarse la cápsula tiene alta humedad que crea ambiente favorable para hongos saprofitos, saprofitos facultativos, nemátodos saprofitos y bacterias; que al aplicar el hipoclorito de sodio se reduce la contaminación logrando 64 % de semillas sanas en el Valle del Paiwa, 76 % de Pinto Recodo y 68 % en San Roque de Cumbaza; también se observa tanto en el Valle del Paiwa como Pinto Recodo 24 % de semillas desinfectadas con hongos a identificar y 32 % en el sector San Roque de Cumbaza. Estos resultados nos presenta una alerta para tomar medidas sanitarias y evitar la expansión de los hongos de una zona a otra, en forma inmediata de corregir este problema es la aplicación de desinfectantes y fungicidas, razones por el cual en el presente trabajo de investigación realizamos pruebas de fungicidas, cuyos resultados se discuten más adelante (Dhingra *et al*, 1980; Baudet y Teichert, 2006).

El hongo *Aspergillus* sp., según lo observado en semillas del Valle del Paiwa se determina que cuando se encuentran húmedas o mal almacenadas existe

alta infestación, así mismo se observó que es sensible al hipoclorito de sodio por que se redujo de 60 % al 12 % de infestación, cuando se aplicó hipoclorito de sodio al 3 % por 2 minutos. Para mejorar estos resultados se debe exponer a mayor tiempo y reducir a cero *Aspergillus* sp.

6.2. Características morfológicas y biométricas de los hongos

Las características observadas en el cuadro 11, de *Rhizoctonia*, es similar a la descripción realizado por Barneth and Hunter 1972 y Agrios 1997 lo recategoriza dentro de la división Basidiomycota, cuya fase sexual es *Thanatephorus cucumiris*, comparado con la descripción de la identificación de especies de *Rhizoctonia* según Sneh, Burpee y Ogoshi 1991 pertenece a la especie de *Rhizoctonia solani*.

Las características morfológicas y biométricas observadas de *Scytalidium dimidiata* y *Botryodiplodia* tienen similitud a la descripción realizada en la clave de Barneth and Hunter 1972, Ellis 1971 y 1976.

Las características de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani* según el cuadro 11 tienen similitud con las descritas por Toussoum and Nelson 1968.

Las características de *Mucor* y *Aspergillus* descrita en el cuadro 11, son concordantes con los descritos por Barneth and Hunter 1972.

6.3. Características morfológicas e identificación de las bacterias

Al comparar las características de los síntomas de la bacteria con las revisiones bibliográficas (Agrios 1997), se determinó que pertenece a la división Gracilecutes, por que son bacterias Gram negativas; pertenecen a la clase Proteobacterias, bacterias unicelulares, familia Enterobacteriaceae y cuyo género es *Erwinia carotovora* y por la maceración que se observa de las semillas es posible que sea *patovar carotovora* de esta manera hacemos de conocimiento a la comunidad científica un patógeno de semilla de *Plukenetia volubilis* L., que es necesario profundizar sus estudios epidemiológicos con la finalidad de buscar métodos de control que satisfagan las expectativas del agricultor, pudiendo utilizar kreso que es un excelente bactericida.

6.4. Pruebas de patogenicidad

- Patogenicidad en semillas inoculadas

El presente cuadro 13, nos muestra que la semilla de *Plukenetia volubilis* L. tiene dormancia (Periodo de inactividad aparente) tal como observó Vargas 2006 que menciona que tiene de 30 a 45 días de dormancia. Existió ataques de bacterias es posible que la presencia de estas sea por la contaminación del agua ya que el suelo y las semillas fue esterilizado antes de la inoculación. Con respecto a *Rhizoctonia solani* (Sandoval, 2005) y *Botryodiplodia theobromae* se puede decir que son hongos patógenos de semillas.

- **Patogenicidad en cuello de las raíces inoculadas**

Los siguientes microorganismos: *Botryodiplodia theobromae*, *Scytalidium dimidiata*, *Rhizoctonia solani* (INIA, 2007), *Rosellinia* sp., afectaron al cuello de la raíz cuando se hicieron inoculaciones por heridas, a las raíces secundarias por infiltración del hongo hacia la rizosfera cuyos síntomas eran pudriciones de raíces cambiando de color crema a color marrón; es claro notar que las semillas *Plukenetia volubilis* L. infectadas por estos hongos son diseminados fácilmente de una zona a otra zona (Porta-Plugia y Aragona, 1997), esto nos indica que se debe prever medidas sanitarias a un corto plazo para reducir la expansión de estos hongos fitopatógenos patógenos hacia otras zonas (Verma y Vyas, 1977; Dhingra *et al*, 1980; Valenciano, 2000).

Por lo tanto las empresas que vienen promocionando este cultivo debe prevenir vendiendo semillas sanas y con tratamiento físico o químico (Dhingra *et al*, 1980; Baudet y Teichert, 2006).

- **Patogenicidad en hojas inoculadas**

Los microorganismos aislados de las semillas no tienen importancia como enfermedades del área foliar por que los resultados de las inoculaciones con heridas y sin heridas en hojas no mostraron ningún síntoma a excepción del hongo *Scytalidium dimidiata* que causó una leve infección en la nervadura de la hoja, por este motivo es un hongo patógeno de hoja de sachá inchi sin importancia económica.

De estas pruebas se deduce los microorganismos que fueron patógenos en semillas, cuello de la raíz, hojas y posiblemente en tallos pueden ser diseminados por las semillas (Porta-Plugia y Aragona, 1997) como una alternativa inmediata se ha realizado la prueba de alimento envenenado protectantes y sistémicos (Verma y Vyas, 1977; Dhingra *et al*, 1980) que mas adelante se detallarán; con esto aportamos a la sociedad sanmartinense al Perú y al mundo nuevos conocimientos sobre este cultivo.

6.5. Alimento envenenado

Para la mejor interpretación se presenta el cuadro resumen de los efectos de los seis experimentos.

Cuadro 22: Efecto de los fungicidas en los seis hongos aislados de semilla de *Plukenetia volubilis* L.

Patógenos	Fungicidas								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Rhizoctonia solani</i>	M	E	E	E	E	E	MB	E	E
<i>Scybalidium dimidiata</i>	R	E	E	E	MB	MB	E	E	MB
<i>Botryodiplodia theobromae</i>	R	E	E	E	MB	MB	E	E	MB
<i>Fusarium oxysporum</i>	M	E	E	E	MB	MB	MB	E	MB
<i>Rosellinia</i> sp.	R	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>Fusarium solani</i>	R	E	E	B	MB	R	MB	E	MB

idas: 1) Propanocarb, 2) Methiram, 3) Tiofanate metil + Thiram, 4) Metalaxil 8 %+ Mancozeb 64%, 5) Metalaxil 4 % + Mancozeb 64 %, 6) Tebuconazole, 7) Flutolamil + Captan, 8) Mancozeb y 9) Benomilo

Escala de clasificación del efecto de fungicidas (Fuente propia)

0	= Excelente	= E
0,1 – 1,0	= Muy bueno	= MB
1,0 – 3,0	= Bueno	= B
3,0 – 6,0	= Regular	= R
6,0 – 9,0	= Malo	= M

Según la escala de evaluación elaborados por el equipo de investigación observamos, que los fungicidas Methiram, Tiofanate metil + Thiram y Mancozeb controlan *in vitro* a los seis hongos, no permitiendo la germinación de las esporas y el crecimiento del micelio de los hongos estudiados, dando como resultado un excelente control, los efectos fueron por contacto y sistémico (Yaringaño 1985; Adrianzen 1996 y 2001; Apablaza 2000 y FAO, 2000).

El Propanocarb es un fungicida que mostró control muy bajo, por que ha permitido el crecimiento y desarrollo de todos los hongos estudiados, según la escala se ubica de regular a malo, siendo la respuesta similar a lo establecido en el cuadro 3, que solo tiene especificidad para el cromista *Phytophthora capsici* (Agrios 1997 y Adrianzen, 1996 y 2001).

El tratamiento con Methiram, impidió la germinación de las esporas, el crecimiento y desarrollo del micelio en el medio de cultivo de los hongos: *Rhizoctonia solani*, *Scybalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Rosellinia sp.* y *Fusarium solani*, al ser absorbidas en proporciones tóxicas (Adrianzen 1996 y 2001), tal como indica su modo de acción de este producto (multisitio y multigénico), es decir que actúan en diferentes procesos metabólicos (metabolismo de proteínas, bloquean la oxidación de ácidos grasos, afectan la producción de energía/ATP y bloquean la enzima deshidrogenasa) del patógeno (Pimentel y Levitan 1986 citado por Orozco-Santos 1998).

Mientras que el Tiofanate metil, es posible que actuó sobre la división celular al nivel de mitosis razones por la cual no crecieron ni se desarrollaron los hongos: *Rhizoctonia solani*, *Scybalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Rosellinia sp.* y *Fusarium solani*, por que es un fungicida sistémico que generalmente actúan en un solo paso en la fisiología del patógeno (Shilengford 1990 citado por Orozco-Santos 1998), en caso de aplicaciones sucesivas puede generar resistencia (Staud, 1991 citado por Orozco-Santos, 1998); su modo de acción contra los hongos estudiados ha sido ampliado por acción del Thiram que es un fungida de multisitio (Pimentel y Levitan 1986 citado por Orozco-Santos 1998). Es posible que el Benomilo ha actuado a nivel de tubulina (Proteína globular, responsable de uno de los principales componentes del citoesqueleto y los microtúbulos) y no permitió el crecimiento y desarrollo de las esporas e hifas de los hongos y por otra parte también es posible que a afectado la germinación de las conidias y el crecimiento de las hifas del hongo. En verdad que estos dos fungicidas son de excelente a muy bueno en el control para los seis hongos, pero no es recomendable su uso en forma continua por que dentro del grupo de esos fungicidas existe una resistencia cruzada positiva entre benomyl, metiltiofanato y carbendazim (Shilengford 1990 citado por Orozco-Santos 1998 y Apablaza, 2000).

El fungicida Metalaxil (8%) + Mancozeb (64%) conocido como Ranchapap su acción fue de contacto y sistémico (Adrianzen, 1996 y 2001; Apablaza, 2000) mostrando excelente control para los siguientes hongos: *Rhizoctonia solani*,

Scytalidium dimidiata, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Rosellinia* y buen control para *Fusarium solani*.

El fungicida Metalaxil (4%) + Mancozeb (64%) conocido como Ridomil gold a pesar de tener los mismos ingredientes activos pero con diferente proporción que el fungicida anterior. Su efecto de control es de excelente a *Rhizoctonia solani* y *Rosellinia* sp. tal como se observa en gráficos 1 y 5, y de control muy bueno con los siguientes hongos: *Scytalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, mostrado en los gráficos 2, 3, 4 y 6; la variación en el resultado también se debe al tipo de excipiente (materia inerte) y a la menor dosis del Metalaxil, siendo su modo de acción de contacto y sistémico (Adrianzen, 1996 y 2001; Apablaza, 2000).

El fungicida Tebuconazole tuvo excelente control para *Rhizoctonia solani* y *Rosellinia* sp. (Gráfico 1 y 5) y muy bueno para el control de *Scytalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae* y *Fusarium oxysporum* (Gráfico 2, 3 y 4) y siendo regular para *Fusarium solani* (Gráfico 6); su modo de acción es sistémico (Adrianzen, 1996 y 2001).

El fungicida Flutolamil + captan fue excelente para controlar *Scytalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae* y *Rosellinia* sp. (Gráfico 2, 3 y 5) y muy bueno para *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. (Gráfico 1 y 4) y bueno para *Fusarium solani* (Gráfico 6), teniendo acción de contacto y sistémico, efectivo en tratamientos de semillas contra hongos (Adrianzen, 1996 y 2001).

El fungicida Mancozeb fue excelente para *Rhizoctonia solani*, *Scytalidium*

dimidiata, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Rosellinia* sp., *Fusarium solani* (Gráfico 1 al 6), por ser un fungicida altamente tóxico (Adrianzen, 1996 y 2001).

El fungicida Benomilo fue excelente control para *Rhizoctonia solani*, *Rosellinia* sp. (Gráfico 1 y 5), y muy bueno para *Scytalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani* (Gráfico 2, 3, 4 y 6), por ser un fungicida de acción sistémica efectivo contra un amplio rango de hongos (Adrianzen, 1996 y 2001).

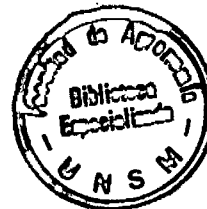
VII. CONCLUSIONES

1. En las semillas analizadas de Sacha inchi se identificó los siguientes microorganismos: *Rhizoctonia solani*, *Scytalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae*, *Mucor* sp., *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus* sp., *Rosellinia* sp. y *Fusarium solani*.
2. Luego de la prueba de patogenicidad se determinó que *Rhizoctonia solani*, *Scytalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Rosellinia* sp. y *Fusarium solani*, son patógenos del Sacha inchi, siendo *Rhizoctonia solani* y *Botryodiplodia theobromae* patógenos en semillas.
3. De las pruebas de alimento envenenado se encontraron que los fungicidas Methiram, Tiofanate metil + Thiram, Mancozeb controlaron de forma excelente a los hongos fitopatógenos: *Rhizoctonia solani*, *Scytalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Rosellinia* sp. y *Fusarium solani*.
4. Asimismo se reporta a la bacteria *Erwinia carotovopra* pv. *carotovora* como patógeno de semillas que causa pudriciones blandas inhibiendo la preemergencia de los almácigos.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda profundizar los estudios de microorganismos en semillas de las diferentes zonas productoras de San Martín, con la finalidad de tener un mapa fitopatológico de semillas de *Plukenetia volubilis* L.
2. A los coleccionistas de semillas de la región amazónica se le recomienda someter a cuarentena las semillas que se trasladan a los bancos de germoplasma para evitar ingreso y diseminación de hongos de fitopatógenos en las zonas productoras.
3. Por la presencia de la bacteria *Erwinia caratovora*, se recomienda hacer buenas prácticas de secado con aireación para evitar la pudrición blanda por bacterias y evitar riego excesivo en almácigos después de la siembra.
4. Como método preventivo y tratamiento sistémico se recomienda los siguientes fungicidas: Methiram, Tiofanate metil + Thiram, Mancozeb, por haber obtenido un excelente control.





IX. RESUMEN

En la región San Martín se viene incentivando la producción de *Plukenetia volubilis* L. para la producción de aceite y harina para el cual se viene vendiendo semillas sin ningún paquete sanitario por estas razones se ha planteado en el presente trabajo que tiene como objetivos: 1) Identificación de los agentes causales de las principales enfermedades fungosas en semillas de *Plukenetia volubilis* L. en San Martín. 2) Evaluar el efecto del alimento envenenado con fungicidas en el desarrollo de los patógenos. Se colectaron semillas considerando el Valle del Paiwa, Pinto Recodo y San Roque de Cumbaza los cuales fueron trasladados al Laboratorio de Sanidad Vegetal donde se realizaron los diagnósticos respectivos iniciándose con la cámara humedad, aislamiento del patógeno para la descripción de las características biológicas y biométricas, prueba de patogenicidad en semillas, cuello de la raíz y hojas, y finalmente se realizaron pruebas de alimento envenenado para los siguientes hongos: *Rhizoctonia solani*, *Scybalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Rosellinia* sp. y *Fusarium solani*, que fueron analizados bajo el diseño completamente al azar. Se ha logrado identificar los siguientes hongos patógenos: *Rhizoctonia solani*, *Scybalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae*, *Mucor* sp., *Fusarium oxysporum*, *Rosellinia* sp. y *Fusarium solani* y la bacteria *Erwinia caratovora*. Se han determinado tres fungicidas que tienen excelente control para los hongos que son: Methiram, Tiofanate metil + Thiram, Mancozeb.

X. SUMMARY

In the San Martín region one comes motivating the production of *Plukenetia volubilis* L. for the production of oil and flour for which one comes selling seeds without any sanitary package for these reasons it has thought about work that has as objectives presently: 1) the causal agents' of the main fungous illnesses identification in seeds of *Plukenetia volubilis* L. in San Martín. 2) to evaluate the effect of the food poisoned with fungicides in the development of the pathogens. Seeds were collected considering the Valley of the Paiwa, Pinto Recodo and San Roque of Cumbaza which were transferred to the Laboratory of Vegetable Sanity where they were carried out the respective diagnoses beginning with the camera humidity, isolation of the pathogen for the description of the biological characteristics and biometrics, patogenicidad test in seeds, neck of the root and leaves, and finally they were carried out food tests poisoned for the following mushrooms: *Rhizoctonia solani*, *Scybalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Rosellinia* sp. and *Fusarium solani* that were analyzed totally at random under the design. It has been possible to identify the following mushrooms pathogens: *Rhizoctonia solani*, *Scybalidium dimidiata*, *Botryodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Rosellinia* sp. and *Fusarium solani* and the bacteria *Erwinia caratovora*. Three fungicides have been determined that have excellent control for the mushrooms that are: Methiram, Tiofanate metil + Thiram, Mancozeb.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **ADRIANZEN, R. Y OTROS. 1996. Vademécum Agrario 1995/1996: Ingeniero Agrónomo. Editorial. Prensa. Impreso en Lima – Perú. 768 p.**
2. **ADRIANZEN, R. Y OTROS. 2001. Vademécum Agrario 2000/2001: Ingeniero Agrónomo. Editorial. Prensa. Impreso en Lima – Perú. 139 p.**
3. **ALEXOPOULOS, C. G. and C. W. MIMS. 1979. Introduction of Mycological. New York. 638 pp.**
4. **AGRIOS, G. N. 1997. Plant Pathology. Fourth Edition. Department of Plant pathology University of Florida. Academia Press. Printed United Status of America. 635 pp.**
5. **AGRIOS, G. N. 1997. Fitopatología. Plan Pathology – Third Edition 1988. 2^{da} Traducido por Manuel Guzmán Ortiz. Editorial LIMUSA, S.A. de C. V. UTEHA. 531 - 581 p.**
6. **APABLAZA, G. 2000. Patología de Cultivos. Epidemiología y Control Holístico. Colección en Agricultura Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 283 – 305 p.**
7. **APECO 2002. Parque Nacional Cordillera Azul. Parque José de Acosta 187 Magdalena - Lima 17 – Perú.**
8. **BARNETH, H. L and B. B. HUNTER. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Third Edition. Burgess Publishing Company. Printed United State of America. 241 pp.**

9. BAUDET, L. y P. TEICHERT. 2006. La Logística para el Tratamiento de semillas. La Revista Internacional de las Semillas SEEDnews. Editora Becker & Peske Ltda.
10. BOTO, J. A., y REINOSO, B. 1996. El cultivo de las leguminosas de grano en Castilla y León. Junta de Castilla y León. Consejería de Agricultura y Ganadería. La judía II. 319-355 p.
11. CALZADA, J. 1970. Métodos Estadísticos para la Investigación. Editorial Juridica S.A. Lima, Perú. 644.
12. CAMARA DE COMERCIO INDUSTRIA Y TURISMO. 1993. Alternativa Sacha inchi. Boletín informativo N° 05. Tarapoto – San Martín.
13. CEDISA 2002. Área de Conservación Regional Cordillera Azul. Jr. Ulises Reátegui 350 – Tarapoto. San Martín – Perú.
14. CIMA 2002. Parque Nacional Cordillera Azul. Jr. Leguía 244 – Morales. San Martín - Perú.
15. DINGRA, O. D.; MUCHOVEJ, J. J., y CRUZ FILHO, J., 1980. Tratamento de sementes (Controle de patógenos). Imprensa Univ. De Univ. Federal de Viçosa. Viçosa, Brasil. 121 pp.
16. ELLIS, M. B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. C. A. B. International Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 507 pp.
17. ELLIS, M. B. 1971. Dematiaceous e Hyphomycetes. C. A. B. International Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 507 pp.
18. FAO. 2000. El Código Internacional de la FAO sobre la Distribución y Utilización de Pesticidas.
19. HAMAKER, B. R. Et. Al. 1992. Perfiles de aminoácidos y ácidos grasos del Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*).

20. HANLIN, R. T. 1990. Illustrated Genera of Ascomycetes. APS PRESS. The American Phytopathology Society. Second Printing. Printed Minnesota in United States of America. 263 pp.
21. INIA, 1996. El cultivo del Sacha Inchi en la Amazonia, LIMA- PERU. 68 p.
22. INIA, 2007. Resultados de investigación en Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.). Subdirección de Recursos genéticos y biotecnología. E. E. A. "El Porvenir". Tarapoto – Perú.
23. INEI 2005. División Política y Población. Jr. San Martín 533 - Tarapoto. San Martín – Perú.
24. LAZZARI, F. A. 1993. UMIDADE, FUNGOS E MICOTOXINAS NA QUALIDADE DE SEMENTES, GRÃOS E RAÇÕES. Curitiba. Ed. Do Autor. 134 p.
25. MACBRIDE L. 1951. Field Museum of Natural History – Botany. Volume XIII. Part. III A, Number 1.
26. Ministerio de Agricultura. Agencia Agraria de Lamas. San Martín Perú.
27. MONT, M. R. 2002. Manejo Integrado de Enfermedades de las Plantas. SENASA. Lima – Perú. 163 p.
28. OROSCO – SANTOS, M. 1998. Manejo Integrado de la *Sigatoka negra* del Plátano. Folleto técnico N° 1. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 95 p.
29. PORTA-PUGLIA, A. y ARAGONA, M., 1997: Improvement of grain legumes. General part: Diseases. Field Crops Research, 53: 17-30.
30. SANDOVAL, Rocío. 2005. Microorganismos en semillas de Algodón (*Gossypium hirsutum*) y Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) en San Martín.

Informe de Prácticas Pre-profesionales. Laboratorio de Sanidad Vegetal
– UNSM. Tarapoto – Perú. 21 p.

31. SNEH, B.; BURPEE, L. and AKERA OGOSHI. 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species. APS. Press. The America Phytopathology Society. St. Paul Mumesoto, USA. 132 pp.
32. TORRES, G. 2007. Procesos Tecnológicos en el Manejo del Cultivo de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) en el Distrito de la Banda de Shilcayo San Martín. TESIS. Tarapoto-Perú. 24 – 40 p.
33. TOUSSOUN, T. A. and NELSON, P. E. 1968. A Pictorial Guede to the Identifications of *Fusarium* species according to the Taxonemie System of Snyderand Honsen. The Pemsylvania State Universyty. Press. United State of America.
34. VALENCIANO, J. B. 2000. Utilización de Pesticidas para la desinfección y la protección de la semilla de Alubia (*Phaseolus vulgaris*) en la provincia de León. Departamento de Ingeniería Agraria. Universidad de Santiago de Compostela. Lugo.
35. VALLES, C. R. 1994. Investigador Agrario y profesor Asociado de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de San Martín. 1-3 p.
36. VARGAS, G. 2007. Estudios Preliminares de viabilidad y vitalidad de las Semillas de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* Lineo) en Condiciones de Laboratorio en la Universidad Nacional de San Martín. Informe de Prácticas Pre-profesionales. Laboratorio de Sanidad Vegetal – UNSM. Tarapoto – Perú. 49 p.

37. VELA, S. L. 1995. Ensayos para la Extracción y Caracterización de Aceite de Sacha Inchi, en el Departamento de San Martín, TESIS, TARAPOTO-PERU. 20 p.
38. VERMA, R. K., y VYAS S. C. 1977: Effect of seed treatment with systemic fungicides in gram wilt control. Pesticides 11: 20-21.
39. YARINGAÑO, V. C. 1985. "Control Químico del Ojo de Sapo del Tabaco Negro en Almaciguera y Campo definitivo. Boletín Técnico. E. E. A. "El Porvenir". San Martín – Perú. 23 p.

ANEXO

INFESTACIÓN E INFECCIÓN DE LA SEMILLA DE *Plukenetia volubilis* L.

Cuadro 23: Observación de semillas sometidas a cámara húmeda

N° Repeticiones	SASD (Semillas aparentemente sanas desinfestadas) con Hipoclorito de sodio al 3 %			SASSD (Semillas aparentemente sanas sin desinfestar)		
	Valle del Paiwa	Pinto Recodo	San Roque de Cumbaza	Valle del Paiwa	Pinto Recodo	San Roque de Cumbaza
I	4 (+) 6 (-)	1 (+) 9 (-)	3 (+) 7 (-)	1 (+) 9 (*)	8 (+) 2 (-)	7 (+) 3 (-)
II	2 (+) 8 (-)	4 (+) 6 (-)	2 (+) 8 (-)	3 (+) 6 (*) 1 (-)	6 (+) 4 (-)	5 (+) 5 (-)
III	1 (+) 9 (-)	10 (-)	2 (+) 8 (-)	2 (+) 7 (*) 1 (-)	6 (+) 4 (-)	5 (+) 5 (-)
IV	4 (+) 2 (*) 4 (-)	5 (+) 5 (-)	6 (+) 4 (-)	4 (+) 6 (*)	6 (+) 1 (*) 3 (-)	4 (+) 6 (-)
V	5 (+) 5 (-)	2 (+) 8 (-)	3 (+) 7 (-)	5 (+) 2 (*) 3 (-)	7 (+) 3 (-)	6 (+) 4 (-)

Leyenda: (+) Semillas infestadas con hongos a identificar
 (*) Semillas infestadas con *Aspergillus* sp.
 (-) Semillas no infestadas

PRUEBA DE ALIMENTO ENVENENADO

Cuadro 24: Prueba de Duncan del alimento envenenado con fungicidas para el control *Rhizoctonia solani*. Datos corregidos

Tratamiento	Media	Sig. Duncan
Testigo	8,98	a
1	8,87	a
7	0,48	b
4	0	c
5	0	c
6	0	c
3	0	c
8	0	c
9	0	c
2	0	c

Cuadro 25: Prueba de Duncan del alimento envenenado con fungicidas para el control de *Scytalidium dimidiata*. Datos corregidos

Tratamiento	Media	Sig. Duncan
Testigo	8,98	a
1	4,20	b
6	0,83	c
9	0,68	cd
5	0,25	de
4	0	e
3	0	e
8	0	e
7	0	e
2	0	e

Cuadro 26: Prueba de Duncan del alimento envenenado con fungicidas para el control de *Botryodiplodia theobromae*. Datos corregidos

Tratamiento	Media	Sig. Duncan
Testigo	8,98	a
1	4,20	b
6	0,83	c
9	0,68	cd
5	0,25	de
4	0	e
3	0	e
8	0	e
7	0	e
2	0	e

Cuadro 27: Prueba de Duncan de alimento envenenado con fungicidas para el control de *Fusarium oxysporum*. Datos corregidos

Tratamiento	Media	Sig. Duncan
Testigo	8,98	a
1	8,83	a
7	0,97	b
5	0,25	c
9	0,21	c
6	0,17	c
4	0	c
8	0	c
3	0	c
2	0	c

Cuadro 28: Prueba de Duncan de alimento envenenado con fungicidas para el control de *Rosellinia* sp. Datos corregidos

Tratamiento	Media	Sig. Duncan
Testigo	8,98	a
1	4,82	b
7	0	c
4	0	c
5	0	c
6	0	c
3	0	c
8	0	c
9	0	c
2	0	c

Cuadro 29: Prueba de Duncan de alimento envenenado con fungicidas para el control de *Fusarium solani*. Datos corregidos

Tratamiento	Media	Sig. Duncan
Testigo	8,98	a
1	5,90	b
6	4,79	bc
4	2,92	cd
7	1,30	de
9	0,98	e
5	0,37	e
8	0	e
3	0	e
2	0	e